

THESIS

MARBURG

1968

Veränderungen der Enzymausstattung im
Energistoffwechsel menschlicher Thrombocyten
bei Leberzirrhose

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Harald Bickel

aus Laubach

Marburg 1968

Veränderungen der Enzymausstattung im Energiestoffwechsel menschlicher Thrombocyten bei Leberzirrhose

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Harald Bickel

aus Laubach

Marburg 1968

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am 30. 4. 1968

gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Dekan: Prof. Dr. med. R. Siegert
Referent: Prof. Dr. med. G. A. Martini
Correferent: Doz. Dr. med. G. Strohmeyer

Inhaltsverzeichnis:

- I. Einführung und Problemstellung:
 1. Mögliche Ursachen für die Blutungsbereitschaft bei Leberzirrhose.
 2. Zur Physiologie und Biochemie der Thrombocyten.
 3. Pathologische Biochemie der Thrombocyten.
 4. Zur Problemstellung.
- II. Untersuchte Patienten:
- III. Ergebnisse:
- IV. Diskussion:
 1. Normale Enzymausstattung menschlicher Thrombocyten.
 2. Zum Enzymmuster der Thrombocyten bei Leberzirrhose.
 3. Zur Pathogenese der Thrombocytenveränderungen.
- V. Zusammenfassung:
- VI. Methodik:
 1. Thrombocytenisolierung und Praeparation.
 2. Puffer und Antikoagulantien.
 3. Silikonisierung der Pipetten und Glasgeräte.
 4. Enzymbestimmungen.
 5. Testzusammensetzung.
 6. Verzeichnis der gebrauchten Abkürzungen.
 - a. Verwendete Substrate und Coenzyme.
 - b. Verwendete Chemikalien.
 - c. Puffersubstanzen.
 7. Mathematischer Anhang.
 - a. Berechnung der Mittelwerte.
 - b. Ermittlung der Standardabweichung.
 - c. Signifikanzprüfung zweier Durchschnitte.

VII. Tabellarischer Anhang:

1. Klinische Daten und Laborwerte in tabellarischer Anordnung.
2. Tabelle aller Meßergebnisse.

VIII. Literatur:

1. Einführung und Problemstellung.

1. Mögliche Ursachen für die Blutungsbereitschaft (der Blutungsneigung) bei Leberzirrhose.

Kranke, die an einer Leberzirrhose leiden, neigen zu Blutungen verschiedener Art. Die häufigste Blutungsquelle sind die als Folge eines Pfortaderhochdruckes auftretenden Oesophagusvarizen. Schreiber (67) gibt an, daß 90 % aller Oesophagusvarizenblutungen als Komplikation der portalen Hypertension bei Leberzirrhose auftreten, wobei Martini (54) mit einer Häufigkeit von 80 % für die Entstehung eines Pfortaderhochdruckes durch Leberzirrhose rechnet. Für diese Massenblutungen muß in erster Linie ein mechanischer Faktor verantwortlich gemacht werden. Daneben ist bei Leberzirrhosekranken jedoch eine allgemeine Blutungsneigung bekannt, die sich sowohl in flächenhaften Haut- und Schleimhautblutungen als auch in purpuraähnlichen Bildern zeigt. Sie wurde wegen ihrer oft auffallenden Ähnlichkeit mit Blutungen bei Haemophilie 1925 von Frank (26) als "Pseudohaemophilia hepatica" bezeichnet.

Als Ursache dieser Blutungen kommen Störungen der Gerinnung in Frage, die in den Plasmafaktoren und in den Thrombocyten lokalisiert sein können.

Breddin (14) führt folgende mögliche Ursachen der Blutungsbereitschaft auf:

1. Störungen der Blutthrombokinasbildung
2. Fibrinogenmangel
3. Vermehrung von Hemmkörpern
4. Verminderung des Prothrombins und der Acceleratoren
5. Thrombocytopenien
6. Thrombocytenfunktionsstörungen
7. Steigerung der Fibrinolyse

Broicher et al. (15) sowie Lasch et al. (46) haben neben anderen Autoren (38, 41, 55, 64, 76, 77,) systematische Gerinnungsanalysen bei Leberzirrhose durchgeführt und vorallem einen Mangel der Faktoren V, VII und des Prothrombins festgestellt. Diese Faktoren werden in der Leber synthetisiert

und ihre Verminderung ist durch die Reduktion des Leberparenchyms erklärbar. Es ist bekannt, daß sich bei fortgeschrittener Leberzirrhose häufig eine Verminderung aller korpuskulären Blutelemente entwickelt, so auch eine Thrombocytopenie (14, 45). Diese kann extreme Werte unter 10.000 Plättchen/mm³ erreichen. Das Zusammentreffen einer Thrombocytopenie mit einer Milzvergrößerung kann häufig beobachtet werden, jedoch wurde darauf hingewiesen, daß eine Thrombocytopenie bei fortgeschrittener Leberzirrhose auch ohne Splenomegalie auftreten kann (45).

Funktionstörungen der Thrombocyten müssen als wichtige Ursache einer haemorrhagischen Diathese angesehen werden. Gross (32) zeigte am Krankenhaus der Marburger Medizinischen Universitätsklinik, daß 65 % der haemorrhagischen Diathesen ausschließlich, und weitere 17 % zusätzlich durch Störungen der Plättchenfunktion bedingt waren. Man wird daher Thrombocytenfunktionsstörungen auch als Ursache der Blutungsbereitschaft bei Leberzirrhose suchen. Jürgens (42) berichtete über eine mangelhafte Retraktion, Störungen der Plättchenadhaesivität und der Agglomerationsneigung als regelmäßige Befunde bei 54 Patienten mit Leberzirrhose. Korinth (45) sah häufig eine Retraktionsverzögerung mit normaler lichtmikroskopischer Thrombocytenmorphologie bei chronischen Lebererkrankungen. Nachdem Broicher et al. (15) eine Verminderung der Thrombusfestigkeit im Thrombelastogramm Leberkranker fand, zeigte Breddin (14) einen pathologischen Ausfall des Thrombelastogramms und eine Retraktionsstörung bei 54 von 84 Patienten mit Leberzirrhose als Ursache dieses Befundes. Die Thrombocytenzahlen fanden sich bei diesen Patienten im Normbereich.

Diese Ergebnisse legen die Suche nach einem biochemischen Äquivalent der Funktionsstörung nahe. Zum besseren Verständnis dieser Fragestellung sei kurz auf die Physiologie und Biochemie der Thrombocyten eingegangen.

2. Zur Physiologie und Biochemie der Thrombocyten.

Die Genese der Thrombocyten gilt heute als gesichert. Sie schnüren sich von den Megakaryocyten des Knochenmarkes ab. Die Morphologie der Plättchen wurde von verschiedenen Autoren lichtmikroskopisch (21, 25, 68) und auch elektronenmikroskopisch (43) untersucht, wobei vor allem dem Funktionsablauf der viskösen Metamorphose besondere Aufmerksamkeit gewidmet wurde. Die Funktion der Thrombocyten wird heute in folgendem Zusammenhang mit dem Gerinnungsablauf gesehen: (33, 53, 73)

1. Agglomeration der Plättchen. 2. Visköse Metamorphose. 3. Retraktion. An einer verletzten Gefäßstelle kommt es zum Anhaften von Thrombocyten. Durch die Gewebsthrombokinase werden Spuren von Thrombin gebildet und der Vorgang der Agglomeration eingeleitet. Die eigentliche visköse Metamorphose geht mit Freisetzung gerinnungsaktiver Thrombocytenfaktoren, insbesondere des im α -Granulomer lokalisierten Thrombocytenfaktors 3 (68), vor sich.

Die visköse Metamorphose und die nachfolgende Retraktion des Blutgerinnsels sind energieverbrauchende Prozesse. Lüscher (52) beobachtete 1956, daß der Retraktionsvorgang mit einer Anhäufung von Milchsäure verbunden ist und nahm an, daß die für diesen Vorgang benötigte Energie vorwiegend aus dem glykolytischen System bezogen werde. Bettex-Galland und Lüscher (5) berichteten 1960 über eine vorübergehende Aktivitätssteigerung der Glykolyse bei Auslösung der viskösen Metamorphose. Kurze Zeit später kommt es nach den Autoren zu einem völligen Verlust der Stoffwechselaktivität. Born (10) und Waller, Löhr, Grignani und Gross (72) zeigten, daß Thrombocyten einen außerordentlich hohen Gehalt an ATP aufweisen. Nach Messungen von Waller und Mitarbeitern (72) beträgt er $21,5 \pm 5$ Mol ATP 10^{11} Plättchen mit einem ATP/ADP Quotienten von 3,1:1. Die Werte liegen nach Angaben von Waller et al., bezogen auf das Gesamtprotein, etwa 150 mal höher als bei Erythrocyten. Das ATP liefert die Energie für die mechanische Retraktion der Plättchen. (Löhr, Waller und Gross / 50) Die Suche nach einem Kontraktilen Äquivalent für die Retraktion durch Bettex-Galland und Lüscher

(3, 4) führte 1959 zur Isolierung eines aktinomyosinähnlichen Proteins, das sich bei Zugabe von ATP und Mg^{++} -Ionen kontrahierte und "Thrombosthenin" genannt wurde. (6)

Lüscher hatte 1956 aus der Anreicherung von Lactat bei der Retraktion abgeleitet, daß die Energie für diesen Vorgang überwiegend auf glykolytischem Wege gewonnen werde. (52) Der Arbeitskreis von Waller, Löhr und Gross zeigte in einer Reihe von Veröffentlichungen über den Energiestoffwechsel menschlicher Thrombocyten (30, 33, 49, 50, 72), daß diese das vollständige Enzymmuster der Glykolyse und des Citratzyklus besitzen. Die Enzyme der Glykolyse liegen in ihrer Aktivität um eine Zehnerpotenz höher als die des Citratzyklus. Dies ließ eine bevorzugte ATP-Bildung durch die Glykolyse vermuten. In Atmungsversuchen demonstrierten sie, daß über 50 % vorgegebener Glukose als Lactat und Pyruvat angehäuft, und nur ca. 20 % zu CO_2 metabolisiert werden. (33)

Bei einem Vergleich fällt die Ähnlichkeit der Enzymausstattung der Thrombocyten mit der des Skelettmuskels auf. Untersuchungen über den Gehalt der Plättchen an einzelnen Dehydrogenasen wurden auch von verschiedenen anderen Autoren durchgeführt. (7, 44, 56, 60, 61, 79) Eine zusammenfassende Darstellung der Enzymausstattung der Thrombocyten und ihrer Stoffwechselaktivität findet sich 1964 bei Dastugue, Bastide und Plat (19). Bedeutsam für das Verständnis der Plättchenaggregation ist die von verschiedenen Untersuchern (11, 12, 27, 69, 80) mitgeteilte Beobachtung, daß VDP in vitro und in vivo zur Zusammenballung der Thrombocyten führt. Das bei der Energiegewinnung für die Retraktion aus ATP freiwerdende ADP bewirkt anscheinend unmittelbar die bei der Agglomeration vorgehenden Formveränderungen der Plättchen.

3. Pathologische Biochemie der Thrombocyten.

Pedrazzini und Salvadio (56) äußerten 1956 die Vermutung, daß Störungen im Enzymmuster der Thrombocyten zu funktionell minderwertigen Plättchen

und Manifestation einer haemorrhagischen Diathese führen könnten. Löhr, Waller und Gross (31, 50, 73) beschrieben bei Patienten mit Thrombasthenia Glanzmann-Naegeli als Ursache der funktionellen Minderwertigkeit der Thrombocyten eine ausgeprägte Verminderung der Glycerinaldehyd - 3 - Phosphat - Dehydrogenase und der Pyruvatkinase. Hierdurch kommt es in diesen Blutplättchen zu einer Verminderung des ATP-Gehaltes um 50 %.

Die Retraktion dieser Thrombocyten war hochgradig gestört und ließ sich nur durch den Zusatz von ATP und Mg^{++} -Ionen normalisieren. Bei einer weiteren Gruppe von Thrombastheniekranken wurde bei normaler Enzymausstattung des Energiestoffwechsels eine Störung im Bereich der ATP- Mg^{++} -Beziehung festgestellt. Die Thrombocytopathie wird demnach als ein qualitativer Plättchendefekt bei normaler Zahl definiert und kann durch sekundäre Thrombocytopenien infolge Knochenmarksinsuffizienz oder Bildung von Antikörpern kompliziert werden. (5, 34, 35, 36, 66, 70, 73) Nach Waller und Gross (73) lassen sich folgende drei Gruppen von Störungen im Funktionsmechanismus unterscheiden:

1. Störungen der Bildung und Freisetzung von Plättchenfaktoren, vor allem des Plättchenfaktors 3.
(Beispiel: v. Willebrand-Jürgens-Syndrom; dabei besteht in der Mehrzahl der Fälle noch ein Faktor VIII-Mangel und eine Gefäßstörung)
2. Störungen des Energiestoffwechsels
(Beispiel: Thrombastheniegruppe)
3. Thrombasthenia thrombocytopathica (Frank) mit Bildung von Riesenplättchen.

Auch bei anderen Erkrankungen können die normale Enzymausstattung der Plättchen und ihr Stoffwechsel verändert sein. Nach Linneweh, Löhr, Waller und Gross (48) ist bei Glykogenosen in den Thrombocyten der Glykogengehalt erhöht und es besteht ein Mangel an Glukose-6-phosphatase.

4. Zur Problemstellung.

Die von verschiedenen Autoren (14, 42, 45) beschriebenen Funktionsstörungen der Blutplättchen bei Leberzirrhosekranken lassen nach einem Defekt in der Produktion und Freisetzung von Thrombocytenfaktoren oder im Energiestoffwechsel suchen. Wir haben in der vorliegenden Arbeit eine systematische Analyse der Enzymausstattung des Energiestoffwechsels an Thrombocyten von Kranken mit Leberzirrhose durchgeführt. Hiermit wird ein Teilaspekt der Thrombocytenbiochemie untersucht, der in charakteristischer Weise bei einer Gruppe von Thrombasthenie gestört ist. (31) Die Ähnlichkeit der Blutungsbereitschaft in ihrer Symptomatik bei Thrombasthenie und Leberzirrhose ließ auch daran denken, daß bei hepatogenen Thrombocytopathien eine ähnliche Störung wie bei der Thrombasthenie vorliegen könne. (14)

Wir untersuchten das Enzymmuster der Glykolyse, des Citratzyklus, einiger Transaminierungsreaktionen, sowie die Aktivität der Mg^{++} -aktivierten ATPase in den Thrombocyten von Kranken mit Leberzirrhose. Die Ergebnisse verglichen wir mit den Werten von gesunden Personen. Im einzelnen interessierten die Beziehungen zwischen Splenomegalie und Enzymausstattung der Thrombocyten und die Verhältnisse bei Thrombocytopenie. Außerdem wird auf einige bisher nicht untersuchte Teilaspekte der enzymatischen Organisation im normalen menschlichen Thrombocyten eingegangen.

Abb. I zeigt die Stoffwechselsequenz des Embden-Meyerhoffweges, der Glykolyse, der direkten Glukoseoxydation, des Glycerin-1-phosphat-Zyklus, des Tricarbonsäurezyklus, der Transaminierung und gleichzeitig einige andere Enzyme, die in der vorliegenden Untersuchung gemessen wurden. Die Zahlen bezeichnen die in Tabelle I angeordneten Enzyme.

Tabelle I : Namen der in Abb. I als Zahlen angegebenen Enzyme und
die dazugehörenden internationalen Abkürzungen.
(nicht untersuchte Enzyme wurden in Klammern gesetzt)

Enzymsequenz des Embden-Meyerhoff-Weges:

(Hauptweg : Glykolyse)

1. (Phosphorylase)	
2. Phosphoglukomutase	PGM
3. Hexokinase	HK
4. Hexosephosphat-Isomerase	PGI
5. Fruktose-6-phosphat-Kinase	F-6-PK
6. Fruktose-di-Phosphatase	FDP
7. Fruktose-1,6-disphosphat-Aldolase	ALD
8. Triosephosphat-Isomerase	TIM
9. Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase	GAPDH
10. 3-Phosphoglycerat-Kinase	PGK
11. Glycerat-Phosphat-Mutase	GPM
12. Enolase	EN
13. Phosphoenolpyruvat-Kinase	PK
14. Laktatdehydrogenase	LDH

(Seitenweg: Glycerin-1-phosphat-Zyklus)

15. Glycerin-1-phosphat-Dehydrogenase	GDH
16. Glycerin-1-phosphat-Oxydase	GPox

Enzyme des Shunts der Pentose-Monophosphate:

(Seitenweg: Direkte Glukose-Oxydation)

17. Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase	G-6-PDH
18. (Lactonase)	
19. 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase	6-PGDH
20. (Ribose-phosphat-Isomerase)	
21. (Transketolase)	
22. (Transaldolase)	

Enzyme des Trikarbonsäure-Zyklus:

- | | |
|---|-------|
| 23. (Pyruvat-Oxydase) | |
| 24. (Condensing-Enzyme) | |
| 25. (Aconitase) | |
| 26. Isocitrat-Dehydrogenase (TPN-spez.) | T-IDH |
| 27. Isocitratdehydrogenase (DPN-spez.) | D-IDH |
| 28. (Ketoglutarat-Oxydase) | |
| 29. (Succinyl-CoA-Synthase) | |
| 30. Succinat-Dehydrogenase | SDH |
| 31. (Fumarase) | |
| 32. Malat-Dehydrogenase | MDH |

(Seitenweg: Aminosäuren)

- | | |
|--------------------------------------|------|
| 33. Glutamat-Oxalacetat-Transaminase | GOT |
| 34. Glutamat-Dehydrogenase | GlDH |
| 35. Glutamat-Pyruvat-Transaminase | GPT |

Besondere:

- | | |
|---------------------------------|-------------------|
| 36. Adenylat-Kinase | AdK |
| 37. Glutathion-Reduktase | GR |
| 38. Mg^{++} -abhängige ATPase | Mg^{++} -ATPase |
| 39. Malic-Enzyme | ME |

II. Untersuchte Patienten.

Es wurden 17 klinisch gesunde Personen als Vergleichsgruppe und 15 Patienten der Medizinischen Universitätsklinik Marburg mit Leberzirrhose untersucht.

Die Normalpersonen sind vorwiegend Studenten und haben ein Durchschnittsalter von 28 Jahren. Dementsprechend befinden sich 14 von 17 Patienten in der Altersgruppe zwischen 20 und 30 Jahren (siehe Tabelle II.).

Aus den Untersuchungen von Schettini et al. (66 a) geht hervor, daß das Patientenalter keinen Einfluß auf die Enzymausstattung der Thrombocyten hat.

Alter :	Zahl :
20-30	14
30-40	1
40-50	1
50-60	1
60-70	-
üb.70	-

Tabelle II: Altersverteilung von 17 untersuchten Normalpersonen.

Das Verhältnis männlicher zu weiblicher Personen betrug 10:7. Wir suchten besonders nach vorliegenden Leber- oder Milzvergrößerungen und nach Hepatitiden in den Anamnesen. Außerdem wurde ein Blutbild zur Kontrolle angefertigt.

Nach der Blutentnahme wurde sofort eine Zählung der Thrombocyten im peripheren Blut vorgenommen. In Tabelle III sind die bei den Normalpersonen ermittelten Thrombocytenzahlen aufgeführt.

Zahl der Untersuchten:	Thrombocyten im periph. Blut:		
	150.000	150.000	100.000
17	17	-	-

Tabelle III: Thrombocytenzahlen im peripheren Blut bei 17 Normalpersonen.

Die Einzelwerte sind aus der Tabelle XIX (Tabellarischer Anhang) zu entnehmen. Sie lagen zwischen 154.000 und 420.000 und befinden sich damit alle im Normalbereich, dessen untere Grenze von uns nach Holzknacht (39) mit $150.000/\text{mm}^3$ angenommen wurde.

Die 15 von uns untersuchten Patienten mit Leberzirrhose waren durchschnittlich 54 Jahre alt und zum größten Teil befanden sie sich schon mehrmals wegen ihrer Lebererkrankung stationär in klinischer Behandlung.

Die Altersverteilung zeigt, wie aus Tabelle IV zu ersehen ist, einen Gipfel zwischen dem 4. und 6. Lebensjahrzehnt. Das Verhältnis männlicher zu weiblicher Patienten betrug 9 : 5.

Alter:	Zahl:
20-30	-
30-40	1
40-50	5
50-60	5
60-70	3
üb. 70	1
	15

Tabelle IV: Altersverteilung von 15 untersuchten Patienten mit Leberzirrhose.

Die Dauer der Zirrhoseerkrankung, vom Zeitpunkt der histologischen oder laparoskopischen Sicherung der Krankheit an gerechnet, betrug im Mittel ein Jahr, bei einem Patienten schon über 5 Jahre. (Tabelle V)

Dauer der Zirrhose:	Zahl:
1 Jahr	11
2 Jahre	3
üb. 2 Jahre	1

Tabelle V: Dauer der Leberzirrhose nach histologischer oder laparoskopischer Sicherung.

Wichtig ist, daß anamnestisch bei 12 der 15 Untersuchten eine Hepatitis in der Vorgeschichte zu finden war. In 4 der 12 Fälle konnte diese Diagnose nicht völlig als gesichert gelten. Bei 4 Patienten kam Alkoholabusus als Faktor für die Erkrankungsursache infrage. Außerdem bestand bei einem Patienten in der Nachkriegszeit eine Hungerdystrophie.

Die klinischen und laborchemischen Hauptmerkmale der Patienten wurden in Tabelle VI zusammengefaßt.

Symptom:	Zahl der Patienten:
Ascites	4
Oesophagusvarizen	6
Hautzeichen	11
Milzvergrößerung	8
Bilirubinerhöhung 1,0 mg %	7
Quickwert unter 60 %	4
Albumin:	
50 rel. %	9
50 rel. %	6
absolut 3,5 g/%	7
3,5 g/%	8
Y-Globulin:	
20 rel. %	2
20 - 25 rel. %	4
25 rel. %	9
GOT im Serum über 50 IE/l	1

Tabelle VI: Klinische und laborchemische Hauptmerkmale bei 15 untersuchten Patienten mit Leberzirrhose.

Zum Zeitpunkt der Untersuchung lag bei 4 Patienten eine dekompensierte Zirrhose mit Ascitesbildung vor. Bei 8 Kranken fand sich eine Albuminverminderung unter 3,5 g/% absolut im Serum und bei 7 eine Bilirubinerhöhung

über 1,0 mg %. Der Quickwert war bei 4 der Untersuchten unter 60 % der Norm erniedrigt. Eine Milzvergrößerung zeigten 8 Patienten. Die Milzgröße wurde durch Palpation festgestellt und röntgenologisch kontrolliert. Die Diagnose "Leberzirrhose" wurde bei 8 Patienten histologisch und bei 7 Patienten laparoskopisch gesichert.

Die Zählungen der Thrombocyten im peripheren Blut ergaben die in Tabelle VII angegebenen Werte.

Zahl der Untersuchten	Thrombocyten im periph. Blut:			
	150.000	150.000	100.000	50.000
15	3	12 davon 5		-

Tabelle VII: Thrombocytenzahlen bei 15 untersuchten Patienten mit Leberzirrhose.

Die Thrombocytenzahlen lagen erheblich tiefer als bei den Kontrollpersonen. Hier konnten keine Werte unter $150.000/\text{mm}^3$ beobachtet werden, während unter den 15 Patienten mit Leberzirrhose wie aus Tabelle VII zu ersehen ist, 12 sind, die weniger als 150.000 Plättchen/ mm^3 aufwiesen, davon 5 sogar weniger als $100.000/\text{mm}^3$. Das Patientengut wurde in zwei Gruppen unterteilt. In die Gruppe I wurden solche aufgenommen, die eine Splenomegalie hatten, in die Gruppe II solche, die keine Milzvergrößerung erkennen ließen.

Bei den 8 Patienten mit Milzvergrößerung konnten durchschnittlich 127.000 Thrombocyten pro mm^3 gezählt werden, davon bei 3 Patienten weniger als $100.000/\text{mm}^3$, also Werte deutlich unter der von Holzknicht (39) angegebenen Streuung des Normalbereiches. Die Leberzirrhosekranken, die neben ihrem Leberleiden keine Milzvergrößerung zeigten, hatten durchschnittlich 168.000 Thrombocyten im mm^3 Venenblut, 1 Patient weniger als $100.000/\text{mm}^3$ Thrombocyten.

Um noch Kriterien für den Funktionszustand der Leber zu haben, verglichen wir das Gesamtprotein des Serums, den relativen Anteil des Albumins in der Elektrophorese und den absoluten Anteil des Albumins im Serum beider Gruppen.

Dabei lag (siehe Tabelle VIII) bei 5 der 8 Patienten mit Splenomegalie das Gesamteiweiß zwischen 6 und 7 g/%, also um den unteren Wert des Normbereiches von 6,5 g/%, nur zwei Patienten hatten einen relativen Albuminanteil von mehr als 55 %, in 5 Fällen lag der absolute Albuminanteil des Serums unter 3,5 g/%.

Gesamtprotein im Serum in g%:	Albuminanteil relativ in %:	Absoluter Albuminanteil in g%:
6,6	41	2,7
7,1	38	2,7
6,1	53	3,2
7,2	57	4,1
6,7	45	3,0
8,0	42	3,3
6,5	55	3,6
6,9	59	4,1

Tabelle VIII: Gesamteiweiß, relativer und absoluter Albuminanteil des Serums bei 8 untersuchten Kranken mit Leberzirrhose und Milzvergrößerung.

Es fanden sich also drei Werte des Gesamtalbumins im Normalbereich, fünf waren sicher pathologisch.

Bei den Patienten ohne Milzvergrößerung zeigt Tabelle IX, daß auch ein Kranker mit niedrigem Gesamteiweiß zu finden war und daß dieser auch ein erniedrigtes Gesamtalbumin unter 3,5 g% aufwies. Drei der sieben Patienten dieser Gruppe hatten Albuminwerte unter 3,5 g%.

Gesamtprotein im Serum in g%:	Albuminanteil relativ in %:	Absoluter Albuminanteil in g%:
7,0	56	3,9
8,0	51	4,1
6,4	50	3,2
8,2	43	3,5
7,2	55	3,9
7,6	52	3,9
7,7	36	2,8

Tabelle IX: Gesamteiweiß, relativer und absoluter Albuminanteil des Serums bei 7 untersuchten Patienten mit Leberzirrhose ohne Milzvergrößerung.

Die Erhöhung des Serumbilirubinspiegels kann als ein weiteres Zeichen einer nicht mehr normalen Leberfunktion angesehen werden.

Sowohl in Gruppe I (mit Splenomegalie) als auch in Gruppe II (ohne Splenomegalie) wurden in jeweils 3 Fällen Werte über 1,5 mg/% gemessen.

In der Fähigkeit der Leber, Albumin zu synthetisieren, und Bilirubin auszuschcheiden sowie auch in der Zahl der Thrombocyten in venösem Blut können demnach in beiden Gruppen keine grundlegenden Unterschiede gesehen werden.

Die Anteile des Albumins im Blutserum und dessen Bilirubinspiegel und die klinische Häufigkeit von Oesophagusvarizen und Ascites wurden für die Patienten beider Gruppen nochmals in Tabelle IXa zusammengestellt.

Patientengruppe:	n	Oesophagusvarizen	Ascites	Serum-Bilirubin 1,5mg%	Albuminanteil d. Serums 3,5 g%
GR. I Patienten <u>mit</u> Milzvergrößerung	8	4	3	3	5
II Patienten <u>ohne</u> Milzvergrößerung	7	2	1	3	3

Tabelle IXa: Häufigkeit wichtiger Symptome in den Patientengruppen I und II mit bzw. ohne Milzvergrößerung.

III. Ergebnisse:

Nach den einzelnen Stoffwechselwegen angeordnet, sind in Tabelle X die von uns gemessenen Enzymaktivitäten normaler menschlicher Thrombocyten mit der zugehörigen Standardabweichung angegeben. Die Betrachtung der Aktivitäten einzelner Enzyme und deren Beziehungen untereinander, wird durch die Auftragung in ein logarithmisches System wesentlich erleichtert. Man erhält so das für jedes Gewebe charakteristische Enzymaktivitätsmuster und damit einen Organisationsplan des Stoffwechsels. (Pette, 59)

Abbildung II gibt in ihrem linken Abschnitt die Enzymaktivitäten der Glykolyse und ihrer Seitenwege, gemessen bei Normalpersonen, in der beschriebenen Weise wieder. Es fällt auf, daß die Mehrzahl der Aktivitäten Werte von 10^3 bis $5 \cdot 10^4$ E pro 10^{11} Plättchen ergibt und diese damit um eine Größenordnung höher liegen als die in Abbildung III, linke Hälfte, aufgetragenen Enzymaktivitäten des Citratzyklus, ebenfalls gemessen an Normalpersonen.

Das begrenzende Enzym der Glykolyse ist nach Grignani und Löhr (30) die Hexokinase (HK). Mit 80 ± 10 E / 10^{11} Plättchen liegt ihre Aktivität im Bereich einiger Enzyme des Citratzyklus.

Die durch Einrahmung herausgehobenen Enzyme (TIM/GAPDH/PGK/GPM/EN) kennzeichnen die von Pette und Pette und Delbrück, Zebe und Bücher (59, 20) charakterisierte proportionskonstante Gruppe der Glykolyse. ("Phospho-Triose-Glycerat-Gruppe") Die Thrombocyten besitzen eine besonders aktive Laktatdehydrogenase. Dies weist auf die besondere Bedeutung der anaeroben Glykolyse für die Energiegewinnung hin. (Abb. II) Dagegen ist die Aktivität der aus dem Wege der direkten Glukoseoxydation gemessenen Enzyme G-6-PDH und 6-PGDH auffallend niedrig.

Die in Abbildung III aufgetragenen Enzymaktivitäten des Citratzyklus und der Transaminierung liegen auf etwa gleichem Niveau. Eine Ausnahme stellen die von uns gefundenen, auffallenden Werte der SDH und der MDH dar. Unsere Messungen fallen in den Aktivitätsbereich der glykolytischen Enzyme und sind damit um zwei Größenordnungen höher als die von Waller, Löhr et al. (72) angegebenen Werte.

Nummern in Abb. 1	Namen der Enzyme (Abk.)	Aktivitäten in $E/10^{11}$ Thrombocyten ⁺	s	Zahl der Unter- suchungen
2.	PGM	348	49	16
3.	HK	80	10	16
4.	PGI	3933	520	17
5.	F-6-PK	858	131	16
6.	FDP	36	6	15
7.	ALD	1160	124	17
8.	TIM	44300	4540	16
9.	GAPDH	2363	185	17
10.	PGK	1942	124	17
11.	GPM	630	43	15
12.	EN	732	67	16
13.	PK	1421	214	16
14.	LDH	13070	1805	16
15.	GDH	54	16	15
16.	GPox	4820	388	16
17.	G-6-PDH	513	82	15
19.	6-PGDH	96	17	16
26.	T-IDH	80	14	16
27.	D-IDH	46	5	14
30.	SDH	1725	198	16
32.	MDH	5650	1111	16
33.	GOT	241	30	14
34.	GlDH	30	6	11
35.	GPT	84	12	14
36.	AdK	454	67	14
37.	GR	589	57	15
38.	Mg ⁺⁺ -ATPase	752	211	11
39.	ME	22	3	15

Tabelle X: Enzymaktivitäten normaler menschlicher Thrombocyten.

⁺) E (Einheiten) = $\text{Mol/hr}/10^{11}$ Thrombocyten unter Standardbedingungen.

Nummern in Abb. 1	Namen der Enzyme (Abk.)	Aktivitäten in E/10 ¹¹ Thrombocyten ⁺	s	Zahl der Unter- suchungen
2.	PGM	327	55	14
3.	HK	120	25	14
4.	PGI	5481	1020	13
5.	F-6-PK	711	95	14
6.	FDP	56	17	11
7.	ALD	1397	219	14
8.	TIM	48200	7460	12
9.	GAPDH	3019	407	14
10.	PGK	2363	312	14
11.	GPM	779	132	14
12.	EN	955	123	14
13.	PK	1715	373	14
14.	LDH	10950	1220	14
15.	GDH	147	59	13
16.	GPox	10450	1082	14
17.	G-6-PDH	575	120	13
19.	6-PGDH	116	24	14
26.	T-IDH	172	38	14
27.	D-IDH	77	11	14
30.	SDH	3005	511	14
32.	MDH	6632	1160	13
33.	GOT	363	84	14
34.	GlDH	44	10	12
35.	GPT	212	55	14
36.	AdK	699	110	14
37.	GR	773	95	14
38.	Mg ⁺⁺ -ATPase	2122	570	14
39.	ME	70	28	14

Tabelle XI: Enzymaktivitätsuntersuchungen an menschlichen Thrombocyten von Zirrhosekranken.

⁺) E (Einheiten) = Mol/hr/10¹¹ Thrombocyten.

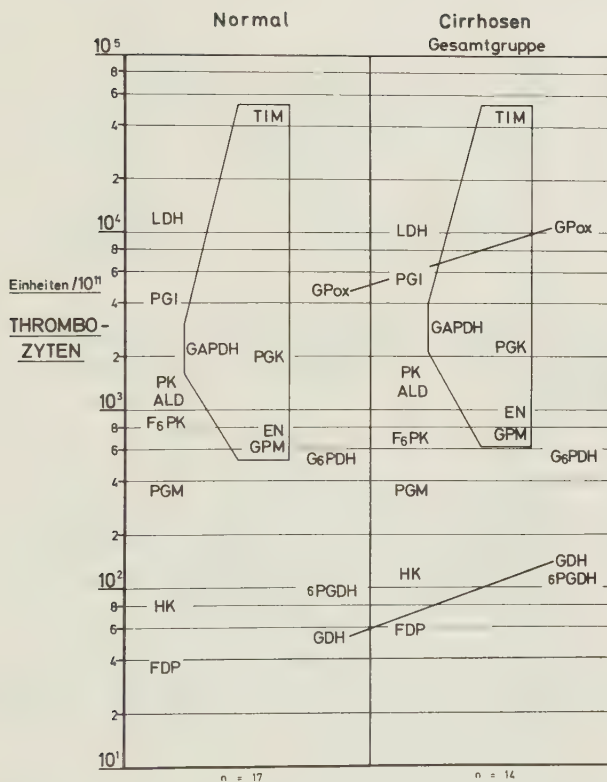


Abbildung II: Enzyme der Glykolyse und ihrer Seitenwege von Thrombocyten klinisch gesunder Personen (linker Abschnitt) und aller Patienten mit Leberzirrhose (rechter Abschnitt)

(Einheiten = Mol/hr/10¹¹ Thrombozyten.)

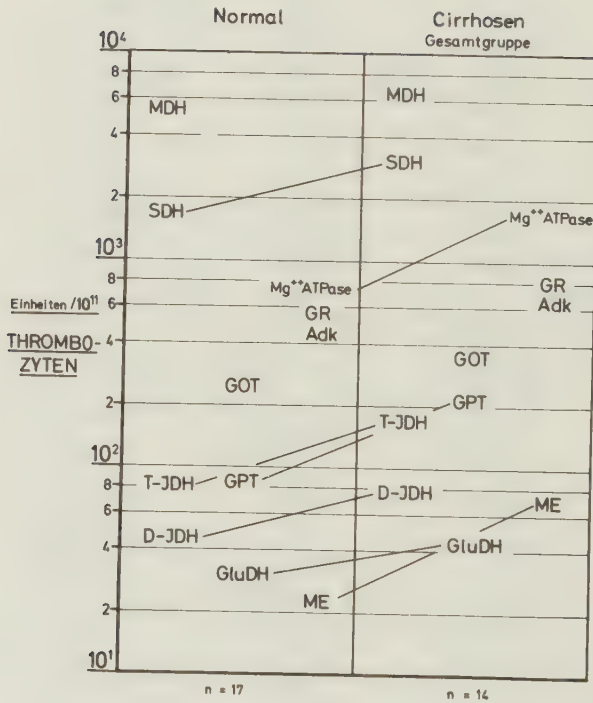


Abbildung III: Enzyme des Citratzyklus, der Transaminierung und einige weitere Enzyme klinisch gesunder Personen (linker Abschnitt) und aller Patienten mit Leberzirrhose (rechter Abschnitt)
 (Einheiten = Mol/hr/10¹¹ Thrombozyten.)

Die für die Thrombocytenfunktion (Retraktion) besonders wichtige, durch Magnesium-Ionen aktivierbare ATPase, zeigt nahezu gleich hohe Werte und die Unterschiede zu den Messungen von Löhr et al. erklären sich durch verschiedene Versuchsbedingungen.

In Tabelle XI sind die Enzymaktivitäten der Plättchen aller untersuchten Zirrhosepatienten zusammengefaßt. Die Mittelwerte für die Stoffwechselwege der Glykolyse, der direkten Glukoseoxydation und des Glycerophosphatzklus sind in der rechten Spalte von Abbildung II aufgetragen, die des Citratzyklus, der Transaminierung und aller anderen Enzyme in der rechten Spalte von Abbildung III.

Die vergleichende Betrachtung läßt nur geringfügige Veränderungen der Enzymaktivitäten für den Bereich der Glykolyse und der von ihr abzweigenden Reaktionswege erkennen. Die Relationen der Enzyme der Phosphotrioseglycerat-Gruppe sind in den beiden verglichenen Gruppen nahezu konstant. Lediglich die GDH und die GPox zeigen einen deutlichen, aber nicht signifikanten Aktivitätsanstieg. Die in Abbildung III eingetragenen Aktivitäten der Enzyme des Citratzyklus T-IDH, D-IDH und SDH sind in den Plättchen der Zirrhosekranken um das 2-3 fache gegenüber der Norm erhöht, ebenso die Aktivitäten der Enzyme der Transaminierung, GOT, GPT und GluDH. Besondere Bedeutung kommt dem Anstieg der durch Magnesium-Ionen aktivierbaren ATPase zu, da dieses Enzym einen großen Teil der bei der viskösen Metamorphose und der Retraktion der Plättchen benötigten Energie durch Spaltung von ATP bereitstellt.

In Tabelle XII sind die Aktivitätsunterschiede nach der Methode von Student auf ihre Signifikanz geprüft. Diese ließ sich für die Enzyme T-IDH, D-IDH, SDH, GluDH, GPT und Mg^{++} -ATPase erbringen.

Nr.	Enzym	p	Nr.	Enzym	p
26	T-IDH	0,0025	34	GluDH	0,025
27	D-IDH	0,0005	35	GPT	0,005
30	SDH	0,0025	38	Mg^{++} -ATPase	0,01

Tabelle XII: Ergebnis der Signifikanzprüfung einiger Enzyme des Citratzyklus, der Transaminierung und der Mg^{++} -ATPase bei Zirrhosekranken.

Die immer wieder diskutierte Möglichkeit einer Beeinflussung der gesamten Haemopoese durch eine erkrankte Milz hat uns dazu veranlaßt, die an den Plättchen der Zirrhosekranken gewonnenen Ergebnisse unter diesem Gesichtspunkt gesondert zu betrachten.

Von den von uns untersuchten 15 Patienten mit Leberzirrhose besaßen 8 eine Milzvergrößerung infolge portalen Hypertension. Diese Patienten wurden zusammengefaßt und der Gruppe von Zirrhosepatienten ohne Milzvergrößerung gegenübergestellt. Alle gemessenen Enzymaktivitäten wurden in beiden Gruppen einer erneuten statistischen Analyse unterzogen, deren Ergebnis in Tabelle XIII für die Gruppe mit Splenomegalie und in Tabelle XIV für die Gruppe ohne Splenomegalie zusammengefaßt wurde.

In Abbildung IV und V sind die gefundenen Mittelwerte für die Normalpatienten und die beiden Zirrhosegruppen in der bereits beschriebenen Weise in das logarithmische System aufgetragen.

Es zeigen sich zwei Phänomene:

1. Im Vergleich zur Gesamtzirrhosegruppe eine noch ausgeprägtere Erhöhung der Enzymaktivitäten des Citratzyklus, der Transaminierung und der Mg^{++} -ATPase in der Gruppe mit Splenomegalie. Hinzu tritt ein jetzt deutlicher Anstieg mehrerer Enzyme der Glykolyse, des Pentosephosphat-Zyklus und des Glycerophosphatzyklus bei den Zirrhosepatienten mit Milzvergrößerung.
2. In der Patientengruppe mit Leberzirrhose, jedoch ohne Milzvergrößerung, finden sich fast alle untersuchten Plättchenenzyme im Normalbereich.

Wie die Abbildung V erkennen läßt, besitzen die Plättchen von Zirrhosepatienten mit Milzvergrößerung eine durchschnittlich 2-3 fach höhere Aktivität der gemessenen Enzyme des Citratzyklus. (T-IDH, D-IDH und SDH). GOT, GPT und GluDH bewegen sich in der gleichen Größenordnung. Die Mg^{++} -ATPase steigt auf die vierfache Aktivität der Norm an. Weiter fällt auf, daß im Stoffwechselweg der Glukoneogenese das Enzym Malic-Enzyme (ME) erhöht ist, ebenso die Glutathionreduktase (GR). Die in der rechten Spalte von Abbildung V eingezeichneten Aktivitäten verdeutlichen, daß alle untersuchten

Nummern in Abb. 1	Namen der Enzyme (Abk.)	Aktivitäten in E/10 ¹¹ Thrombocyten ⁺)	s	Zahl der Unter- suchungen
2.	PGM	310	53	8
3.	HK	169	32	8
4.	PGI	6683	1368	7
5.	F-6-PK	929	76	8
6.	FDP	56	38	8
7.	ALD	1583	313	8
8.	TIM	44913	11610	7
9.	GAPDH	3615	590	8
10.	PGK	3137	282	8
11.	GPM	1020	125	8
12.	EN	1127	164	8
13.	PK	2218	625	7
14.	LDH	8320	1742	7
15.	GDH	229	85	8
16.	GPox	12017	1399	8
17.	G-6-PDH	807	173	7
19.	6-PGDH	170	29	8
26.	T-IDH	268	42	8
27.	D-IDH	105	13	8
30.	SDH	8404	1512	8
32.	MDH	7965	1627	8
33.	GOT	499	131	8
34.	GlDH	68	13	6
35.	GPT	331	67	8
36.	AdK	764	141	8
37.	GR	983	104	8
38.	Mg ⁺⁺ -ATPase	3126	906	8
39.	ME	60	40	8

Tabelle XIII: Enzymaktivitäten, gemessen an Thrombocyten von Patienten mit Leberzirrhose und Splenomegalie.

⁺) E (Einheiten) = Mol/hr/10¹¹ Thrombocyten.

Nummern in Abb. 1	Namen der Enzyme (Abk.)	Aktivitäten in E/10 ¹¹ Thrombocyten ⁺⁾	s	Zahl der Unter- suchungen
2.	PGM	349	116	6
3.	HK	65	14	6
4.	PGI	3710	1110	6
5.	F-6PK	586	138	6
6.	FDP	29	5	6
7.	ALD	758	142	6
8.	TIM	43860	8177	5
9.	GAPDH	2057	274	6
10.	PGK	1330	239	6
11.	GPM	460	129	6
12.	EN	727	148	6
13.	PK	980	244	6
14.	LDH	14430	3885	6
15.	GDH	16	2	5
16.	GPox	8400	1176	6
17.	G-6PDH	304	74	6
19.	6-PGDH	45	7	6
26.	T-IDH	43	12	6
27.	D-IDH	43	6	6
30.	SDH	3727	416	6
32.	MDH	5844	1550	5
33.	GOT	181	34	6
34.	GluDH	20	7	6
35.	GPT	52	18	6
36.	AdK	633	203	6
37.	GR	494	92	6
38.	Mg ⁺⁺ -ATPase	1428	578	6
39.	ME	16	2	6

Tabelle XIV: Enzymaktivitäten, gemessen an Thrombocyten von Patienten mit Leberzirrhose und ohne Splenomegalie.

⁺⁾ E (Einheiten) = Mol/hr/10¹¹ Thrombocyten.

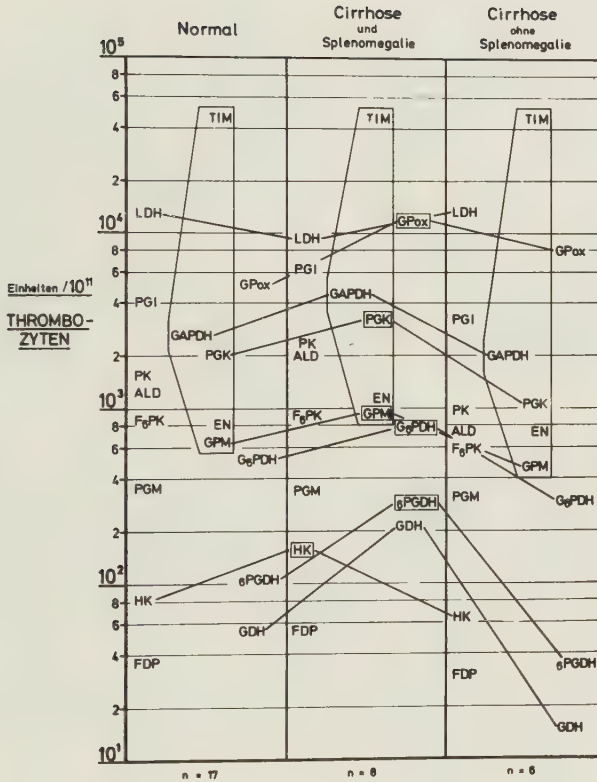


Abbildung IV: Das Enzymmuster der Glykolyse und ihrer Seitenwege für klinisch gesunde Personen (linke Spalte), Patienten mit Leberzirrhose und Splenomegalie (mittlere Spalte) und Patienten mit Leberzirrhose, aber ohne Splenomegalie (rechte Spalte). Die eingerahmten Enzyme zeigten eine statistisch signifikante Erhöhung.

(Einheiten = $\text{Mol/hr}/10^{11}$ Thrombozyten.)

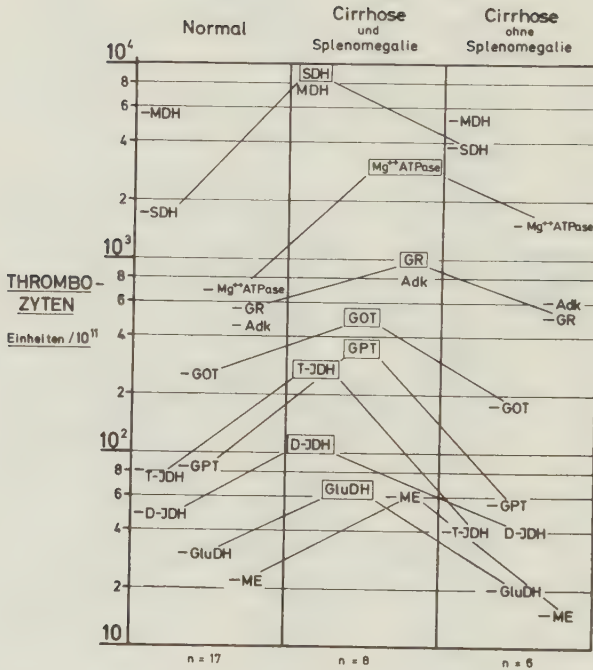


Abbildung V: Die Enzymmuster des Citratzyklus, der Transaminierung und einiger weiterer Enzyme für klinisch gesunde Personen (linke Spalte), Patienten mit Leberzirrhose und Splenomegalie (mittlere Spalte) und Patienten mit Leberzirrhose, aber ohne Splenomegalie (rechte Spalte). Die eingekreisten Enzyme zeigten eine statistisch signifikante Erhöhung.

(Einheiten = $\text{Mol/hr}/10^{11}$ Thrombocyten.)

Enzyme in den Thrombocyten von Zirrhosekranken ohne Milzvergrößerung entweder eine Aktivität im Normalbereich oder deren untere Grenze zeigen.

Ein früherer Vergleich glykolytischer Enzyme von Normalpersonen und Patienten mit Leberzirrhose (Gesamtgruppe) ließ nur relativ geringe Unterschiede erkennen, dagegen demonstriert das Enzymmuster der Patientengruppe mit Zirrhose und Milzvergrößerung (Gruppe I des unterteilten Patientengutes) in der mittleren Spalte der Abbildung IV deutliche Anstiege mehrer Enzymaktivitäten der Glykolyse. So kommt es zu einer nahezu parallelen Anhebung der Phosphotriosglycerat-Gruppe, GAPDH, PGK, EN, GPM; lediglich die TIM, die die überhaupt höchste aller gemessenen Aktivitäten besitzt, bleibt unverändert. Ebenfalls erheblichen Aktivitätszuwachs kann man auch bei den im Glycerophosphatzyklus lokalisierten Enzymen GDH und GPox beobachten, sowie bei den Enzymen der direkten Glukoseoxydation G-6-PDH und 6-PGDH.

Das als Schlüsselenzym der Glykolyse von Waller et al. (72) und Grignani und Löhr (30) charakterisierte Enzym Hexokinase ist ebenfalls erhöht, während ein weiteres Schlüsselenzym des Embden-Meyerhoff-Weges, die Fruktose-6-phosphat-Kinase, seine Aktivität nicht verändert. Auffallend ist der in dieser Patientengruppe sichtbare Abfall der für die Thrombocytenfunktion wichtigen LDH von ca. 13.000 auf 8.000 E/10¹¹ Thrombocyten.

In Tabelle XV sind die Ergebnisse der Signifikanzprüfung für die beschriebenen Aktivitätsveränderungen angegeben.

Nr.	Enzym	p	Nr.	Enzym	p
2	HK	0,0005	26	T-IDH	0,0005
10	PGK	0,0005	27	D-IDH	0,0005
11	GPM	0,0005	30	SDH	0,0005
16	GPox	0,0005	33	GOT	0,0005
17	G-6-PDH	0,01	34	GluDH	0,0005
19	6-PGDH	0,0005	35	GPT	0,0005
			37	GR	0,0005
			38	Mg ⁺⁺ -ATPase	0,0005

Tabelle XV: Ergebnis der Signifikanzprüfung einiger Enzyme der Glykolyse, des Glycerophosphatzyklus, des Pentosephosphatzyklus, des Citratzyklus, der Transaminierung und weiterer Enzyme bei Zirrhosekranken mit Splenomegalie.

Eine Signifikanz ließ sich im Vergleich zu Tabelle XI zusätzlich für die Enzyme HK, PGK, GPM, GPox, G-6-PDH, 6-PGDH, GOT und GR erbringen, ($p = 0,0005$) außerdem wird für die in Tabelle XII angeführten Enzyme die Signifikanz jetzt ausgeprägt.

Im folgenden wird noch auf Enzymaktivitätsmessungen an Thrombocyten des Patienten H.F. eingegangen. Die Meßwerte lagen so auffallend hoch, daß wir uns entschlossen haben, sie gesondert zu betrachten. Bemerkenswert ist, daß bei dem Patient weder klinisch noch röntgenologisch eine sichere Milzvergrößerung vorlag und daß die bei ihm festgestellte Zirrhose keine Zeichen einer ausgeprägten Aktivität erkennen ließ. Die Zahl der Thrombocyten im peripheren Blut lag bei $98.000/\text{mm}^3$, das Blutbild war normal. Weitere klinische Einzelheiten sind aus dem tabellarischen Anhang zu entnehmen.

Tabelle XVI gibt die Meßwerte der einzelnen Enzymaktivitäten des Patienten H.F. wieder.

Nr.:	Name:	Aktivität:	Nr.:	Name:	Aktivität:
2.	GPM	1396	17.	G-6-PDH	4660
3.	HK	583	19.	6-PGDH	420
4.	PGI	32400			
5.	F-6-PK	5590	26.	T-IDH	583
6.	FDP		27.	D-IDH	425
7.	ALD	3740	30.	SDH	18100
8.	TIM	79200	32.	MDH	39600
9.	GAPDH	16300			
10.	PGK	11650	33.	GOT	1165
11.	GPM	4670	34.	GluDH	650
12.	EN	3730	35.	GPT	466
13.	PK	6125			
14.	LDH	8030	36.	AdK	1860
			37.	GR	4200
15.	GDH		38.	Mg ⁺⁺ -ATPase	675
16.	GPox.	32600	39.	ME	240

Tabelle XVI: Die einzelnen Meßwerte des Patienten H.F. der verschiedenen untersuchten Enzyme, in $\text{E}/10^{11}$ Thrombocyten
(Einheiten = $\text{Mol}/\text{hr}/10^{11}$ Plättchen)

Um diese soeben angeführten Einzelmessungen mit den Einzelmeßwerten der übrigen Patienten vergleichen zu können, sind alle von uns gefundenen Werte für die von uns untersuchten Personen, einschließlich Normalpersonen, im tabellarischen Anhang angeordnet. Kurze Charakteristika über Alter, Geschlecht, Reihenfolge der Untersuchungen und die Zahl der Thrombocyten im peripheren Blut sind beigefügt.

IV. Diskussion:

1. Normale Enzymausstattung menschlicher Thrombocyten.

Normale menschliche Thrombocyten sind mit den Enzymen der Hauptwege des energieliefernden Stoffwechsels ausgestattet, wie die Untersuchungen von Waller, Löhr, Grignani und Gross (72, 73) gezeigt haben. Die Aktivitäten der glykolytischen Enzyme liegen etwa um eine Größenordnung höher als diejenigen des Citratzyklus, der Transaminierungsreaktionen und der direkten Glukoseoxydation. Die hohe Aktivität der Laktatdehydrogenase in den Plättchen ist ein Zeichen für eine bevorzugte ATP-Bildung auf dem Wege der anaeroben Glykolyse in diesen Zellen. Pette sowie Delbrück, Zebe und Bücher (59, 20) beschrieben für Gewebe verschiedener Spezies, daß sich die Aktivitäten der fünf in dem zentralen Segment der Glykolyse angeordneten Enzyme TIM, GAPDH, PGK, GPM und EN in konstanten Proportionen zueinander finden. Die Anordnung der Aktivitäten in ein logarithmisches System in den Abbildungen II und IV verdeutlicht, daß die Aktivitäten der Enzyme der "Phospho-Triose-Glycerat-Gruppe" auch in Thrombocyten in einem Zahlenverhältnis zueinander stehen, wie es in anderen Geweben vorliegt. Lediglich in der Proportion PGK zu GPM ist eine Variation der Enzymausstattung mit deutlich erniedrigter Aktivität der GPM in Bezug zu GAPDH zu erkennen, also umgekehrte Proportionen, wenn man die Befunde am Skelettmuskel als Vergleich heranzieht. Die Aktivität der GPM zeigt jedoch auch in anderen Organtypen die größte Variabilität innerhalb der beschriebenen Enzym-Gruppe. Das Phänomen der konstanten Proportionen beweist, daß das aus der vergleichenden Biochemie der Gewebe erkannte Ordnungsprinzip (59) nicht nur im Zellverband, sondern auch in den als Funktionseinheit losgelösten Zellen, hier den Thrombocyten zu finden ist.

Die fest an die Mitochondrienstruktur gebundenen Enzyme Succinatdehydrogenase und Glycerophosphatoxydase wurden von uns mit relativ hohen Aktivitäten nachgewiesen. Sie liegen in der Größenordnung der Glycerinaldehydphosphat-Dehydrogenase (GAPDH). Die Meßwerte der Succinatdehydrogenase liegen wesentlich höher als die von Waller et al. (72) mitgeteilten Aktivitäten dieses

Enzyms. Eine Erklärung wären die unterschiedlichen Meßbedingungen. Das gleiche gilt für die Malatdehydrogenase.

Die mitochondrial lokalisierte α -Glycerophosphatoxydase ermöglicht im Zusammenwirken mit der cytoplasmatischen α -Glycerophosphatdehydrogenase die Oxydation cytoplasmatischen Wasserstoffes über den Glycerophosphatcyklus (59). Es kann angenommen werden, daß die Glycerophosphatdehydrogenase, die in reifen Thrombocyten nur wenig aktiv ist, als geschwindigkeitsbeschränkender Faktor für den Energiedurchfluß durch diesen Stoffwechselweg gelten kann. Ihre Aktivität liegt in normalen Thrombocyten etwa in der Größenordnung der Hexokinase, also jenem Enzym, das von Grignani und Löhr (30) wegen seiner relativ niedrigen Aktivität als das die Umsatzrate der Glykolyse begrenzende Enzym angesehen wurde. Die von Goebell und Klingenberg in Mitochondrien verschiedener Säugetierorgane nachgewiesene NAD-spezifische Isocitratdehydrogenase (D-IDH) (28) wurde von uns erstmalig auch in Thrombocyten gemessen. Dieses Enzym übt durch seine Aktivierbarkeit durch ADP (28) eine den Substratdurchfluß regulierende Rolle im Citratzyklus aus, vergleichbar derjenigen der Fruktose-6-phosphatkinase in der Glykolyse (53a). Der bei der Isocitratoxydation freiwerdende Wasserstoff wird nach Bedarf mehr für die Synthesen (NADP-spezifische IDH) oder für die Oxydation (NAD) zur Verfügung gestellt. Von Goebell et al. (29) wurde als Maß für die Ausrichtung des Gewebes auf oxydative oder synthetische Leistungen der Quotient der Aktivität T-IDH/D-IDH angegeben und ist in Tabelle XVIa für normale Thrombocyten und die Thrombocyten bei Leberzirrhose angeführt. In normalen Thrombocyten entspricht der Zahlenwert dieses Quotienten etwa dem im Skelettmuskel gefundenen Wert (29). Waller, Löhr et al. (72) erkannten bereits die Ähnlichkeit der Enzymsausstattung von Thrombocyten und Skelettmuskeln. Über das unterschiedliche Enzymmuster verschiedener Muskeln der gleichen Spezies und deren funktionelle Bedeutung, auf die nicht näher eingegangen werden soll, siehe bei Delbrück et al. (20), Pette (59) und Vogell et al. (71).

AKTIVITÄT	T - IDH
	D - IDH
Th. normal	1,7
Th. bei Leberzirrhose, gesamt	2,2
Th. bei Le-Zi <u>mit</u> Splenomegalie	2,5
Th. bei Le-Zi <u>ohne</u> Splenomegalie	1,0
Skelettmuskel (Ratte)	1,3

Tabelle XVIa: Quotient der Aktivitäten der Enzyme NADP-spezifische Isocitratdehydrogenase (T - IDH) und NAD-spezifische Isocitratdehydrogenase (D - IDH) in menschlichen Thrombocyten und im Skelettmuskel der Ratte (29).

Der Quotient T-IDH zu D-IDH ist in Tabelle XVIa für die Kontrollpersonen, alle Patientengruppen und zum Vergleich für den Skelettmuskel der Ratte angegeben.

2. Zum Enzymmuster der Thrombocyten bei Leberzirrhose.

Pedrazzini und Salvidio (57) beschrieben eine Verminderung der ATPase, Nucleotidase und der sauren und alkalischen Phosphatase in Thrombocyten von Kranken mit Leberzirrhose. Wir fanden in unseren Untersuchungen keine ähnlichen Befunde für die Enzyme des Energiestoffwechsels. In der Enzymausstattung unterscheiden sich nach den vorgelegten Ergebnissen die Thrombocyten von Patienten mit Leberzirrhose und Milzvergrößerung infolge portaler Hypertension erheblich von Thrombocyten gesunder Menschen und von Plättchen Zirrhosekranker ohne Splenomegalie. Es fällt eine Aktivitätszunahme aller in den Mitochondrien lokalisierter Enzyme um das 3-4 fache auf. Wie Tabelle XVII zeigt, erfolgt die Zunahme der Aktivitäten annähernd parallel für die untersuchten mitochondrialen Enzyme.

	Normalpersonen	Patienten mit Leber- zirrhose und Spleno- megalie
SDH/Mg ⁺⁺ -ATPase	2,3	2,7
SDH/T-IDH	22	31
SDH/D-IDH	38	80
SDH/GluDH	57	123
SDH/GPT	21	25

Tabelle XVII: Der Quotient der SDH zu einigen mitochondrial lokalisierten Enzymen bei Normalpersonen und Patienten mit Leberzirrhose und Splenomegalie.

Diese Beobachtung läßt zwei Erklärungen zu. 1. Bei weitgehend gleichbleibendem Enzymgehalt der Mitochondrien nimmt die Zahl der Mitochondrien in den Thrombocyten zu. 2. Es liegen Mitochondrien mit einer höheren Enzymaktivität vor.

Eine Ausnahme von der oben gekennzeichneten Tendenz macht die Malatdehydrogenase (MDH). Sie zeigt bereits in den Thrombocyten gesunder Menschen eine relativ hohe Gesamtaktivität und der Aktivitätszuwachs ist vergleichsweise gering.

Da die Malatdehydrogenase sowohl im Cytoplasma als auch in den Mitochondrien lokalisiert ist (59), erscheint ein proportionaler Anstieg zu den anderen Enzymen des mitochondrialen Anteiles der MDH bei nur geringer Zunahme oder gleichbleibender Höhe der cytoplasmatischen Aktivität im Rahmen der beobachteten Aktivitätszunahme möglich.

Einen ausgeprägten Aktivitätszuwachs fanden wir für die durch Mg^{++} -Ionen aktivierbare ATPase. White und Krivit (74) stellten fest, daß sie überwiegend in den Mitochondrienmembranen lokalisiert ist. Die gemessene Erhöhung steht im Widerspruch zu dem Befund Pedrazzini und Salvidio (57), die eine Verminderung bei Leberzirrhose beschrieben. Die von uns gefundene Erhöhung erscheint von Bedeutung, wenn man die besondere Funktion der ATPase für die ATP-Spaltung bei der Retraktion der Thrombocyten berücksichtigt.

Im Bereich der im Cytoplasma lokalisierten Enzyme der Glykolyse ist bei Zirrhosepatienten mit Splenomegalie ebenfalls eine Erhöhung der Enzymaktivitäten in den Plättchen zu beobachten. Sie ist geringer ausgeprägt als bei den mitochondrialen Enzymen, ließ sich aber für mehrere Enzyme signifikant nachweisen. Die konstanten Proportionen innerhalb der "Phospho-Triose-Glycerat-Gruppe" bleiben weitgehend erhalten. Gleichbleibende Aktivitäten fanden sich nur für die Trioseisomerase (TIM), für die Fruktose-6-phosphat-Kinase (F-6-PK) und die Phosphoglucose-Mutase (PGM). Die TIM ist das Enzym mit der höchsten aller gemessenen Aktivitäten, und ein weiterer Anstieg als funktionelle Anpassung ist nicht zu erwarten. Die Fruktose-6-phosphat-Kinase (F-6-PK) katalysiert eine der ersten Umsetzungen nach der Phosphorylierung der Glukose. Eine unveränderte Aktivität der F-6-PK bei allgemeiner Aktivitätssteigerung der glykolytischen Enzyme wurde von Witt, Müller und Künzer auch für die Erythrocyten bei Neugeborenen beschrieben (75). Die besonderen Aktivierungs- und Hemmungseigenschaften der F-6-PK charakterisieren dieses Enzym als einen Regulationsort der Glykolyse (53a). Offensichtlich ist auch für einen höheren Substratdurchfluß keine Steigerung der absoluten Aktivität dieses Enzyms notwendig. Das beobachtete Ansteigen der Hexokinaseaktivität auf das Doppelte läßt eine vermehrte Phosphorylierung von Glukose möglich erscheinen. Daß die

beobachteten Enzymaktivitätsveränderungen den Charakter einer funktionellen Anpassung tragen, geht aus der Tatsache hervor, daß die Aktivität der Laktatdehydrogenase als einzige eine deutliche Verminderung in den Thrombocyten der Patienten mit Splenomegalie zeigt. Die LDH-Aktivität fällt etwa um die Hälfte ab, liegt aber immer noch in einer Größenordnung, in der eine anaerobe Glykolyse ohne Schwierigkeiten möglich ist.

Deutliche Aktivitätsanstiege finden sich in den beschriebenen Thrombocyten auch für die Enzyme des Glycerophosphatzyklus, GDH und GPox, sowie die beiden gemessenen Enzyme der direkten Glukoseoxydation G-6-PDH und 6-PGDH. Die ausgeprägte Erhöhung der Mittelwerte der GDH um den Faktor vier macht eine verstärkte Oxydation des in der Glykolyse anfallenden Wasserstoffes durch den direkten Transport in die Mitochondrien möglich. Es muß offen bleiben, ob hier ein Kompensationsmechanismus für eine möglicherweise in diesen Plättchen verminderte anaerobe Glykolyse vorliegt, die zu einem vermehrten Anfall von NADH im cytoplasmatischen Raum führen würde.

Von besonderer Bedeutung ist, daß die beschriebenen Veränderungen der Enzymaktivitäten nur in den Thrombocyten von Patienten mit Leberzirrhose und Splenomegalie zu finden sind. In der Patientengruppe mit Leberzirrhose und normaler Milzvergrößerung sahen wir alle gemessenen Enzymaktivitäten noch im Streubereich der Normalwerte. Auch die Aktivität der Laktatdehydrogenase (LDH) ist in den Plättchen dieser Patienten nicht erniedrigt, sondern im Normalbereich. Diese Beobachtungen weisen zwingend auf Beziehungen zwischen den gefundenen Veränderungen der Thrombocyten und der Milzvergrößerung dieser Zirrhosepatienten hin. Vergleichsweise ließ der Versuch einer Korrelation der Thrombocytenenzyme mit der Leberfunktion keine Auffälligkeiten erkennen. In beiden Gruppen von Patienten, also sowohl der mit als auch in der ohne Splenomegalie, finden sich Kranke mit normalen pathologischen Leberfunktionen in etwa gleicher Verteilung.

Aus verschiedenen Untersuchungen wurde bekannt, daß jugendliche Blutzellen höhere Enzymaktivitäten besitzen als reife. Rapoport (65) berichtete über aus-

geprägte Erhöhungen der Enzyme der Glykolyse und des Citratzyklus in Retikulo-
locyten. Mit zunehmender Erythrocytenreife kommt es zu einem Verlust der
mitochondrialen Enzyme. Nicht nur Reticulocyten sondern auch von Kernmate-
rial bereits befreite jugendliche Erythrocyten zeigen höhere glykolytische En-
zymaktivitäten als reife Erythrocyten. (75) Bock, Waller, Löhr und Karges
fanden in Megalocyten, also unreifen Blutzellen, eine 2-3 fache Aktivitätser-
höhung der glykolytischen Enzyme (9). Die Alterung von Blutzellen ist offen-
sichtlich mit einem Verlust an Enzymaktivitäten verbunden, denn bei der in
vitro verfolgten Erythrocytenalterung kommt es zu einer Abnahme der Dehydro-
genaseaktivitäten in Form einer Exponentialfunktion. (51) Gleiche Untersu-
chungen an menschlichen Thrombocyten in vitro durch Löhr und Waller (49)
führten zur Beobachtung eines zunehmenden Aktivitätsverlust der getesteten
Enzyme. Der Mangel der GAPDH mit nachfolgender Erniedrigung des ATP-
Gehaltes führte schließlich zu einer Störung der Plättchenretraktion bei norma-
ler Funktion des Plättchenfaktors 3 und ungestörtem Thrombelastogramm. Inte-
ressant ist in diesem Zusammenhang die von Mc Donald et al. (23) mitgeteilte
Beobachtung, daß jugendliche Thrombocyten größer sind als ältere.

Uns scheint nach diesen Befunden die Annahme gut begründet zu sein, daß bei
Patienten mit Leberzirrhose und Splenomegalie eine Thrombocytenpopulation vor-
liegt, die durchschnittlich jünger ist als die bei Normalpersonen oder bei Pa-
tienten mit Leberzirrhose und ohne Milzvergrößerung. Diese jüngere Plättchen-
population ist durch einen signifikant erhöhten Gehalt der glykolytischen En-
zyme und der Enzyme des Citratzyklus und benachbarter Seitenwege des Stoff-
wechsels gekennzeichnet.

Bock, Karges, Löhr und Waller (8) führten eine Analyse des Enzymmusters von
Erythrocyten bei Kranken mit Leberzirrhose durch und stellten ebenfalls eine
signifikante Erhöhung aller untersuchten Enzyme fest. In ähnlicher Weise be-
schrieben Huber, Ciresa et al. (40) eine Erhöhung der G-6-PDH in Erythro-
cyten bei Leberzirrhosepatienten. Die Parallelität dieser an Erythrocyten und
von uns an Thrombocyten gesehenen Befunde ist auffallend. Die mögliche Kor-
relation zu einer Milzvergrößerung wurde von den Autoren nicht untersucht.

3. Zur Pathogenese der Thrombocytenveränderungen.

Unsere Patienten hatten in den beiden Gruppen mit und ohne Splenomegalie durchschnittlich eine geringfügige Thrombocytopenie zwischen 100.000 und 150.000 Zellen /mm³. Die Entstehung der bei Leberzirrhosen häufigen Thrombocytopenie ist noch ungenügend geklärt. Die Annahme einer splenogenen Markhemmung durch einen humoralen Mechanismus (18, 37) erhielt eine wesentliche Erweiterung durch den Nachweis von zirkulierenden, gegen Plättchen gerichtete Antikörper bei verschiedenen Zuständen von Thrombocytopenie (35, 36, 66, 70). Die vorzeitige und zahlenmäßig erhöhte Zerstörung der Thrombocyten in der vergrößerten Milz spielt wahrscheinlich eine besondere Rolle für die Entstehung der Thrombocytopenie bei Splenomegalie (78). Von Cohen, Gardner und Barnett (17) wurde bei Patienten mit Leberzirrhose und Splenomegalie infolge portaler Hypertension die Lebensdauer von Thrombocyten, die mit Cr⁵¹ markiert waren, untersucht. Die Patienten hatten eine Thrombocytopenie zwischen 60.000 und 100.000 Plättchen /mm³. Die Autoren stellten fest, daß eine deutliche Verkürzung der Lebenszeit vorlag, betonten jedoch, daß in allen Fällen eine gleichzeitige Verminderung der Plättchenproduktion bestand, die normalerweise 80.000 Plättchen /mm³ und Tag beträgt, bei den Untersuchten aber nur Werte zwischen 30.000 und 70.000 Plättchen /mm³ und Tag erreichte. Es ist also sicher nicht erlaubt, nur einen Faktor für die Entstehung einer Thrombocytopenie bei Leberzirrhose verantwortlich zu machen.

Aster (1) hebt die besondere Rolle der vergrößerten Milz als "Plättchenpol" hervor. Durch Studien an ebenfalls mit Cr⁵¹ markierten Thrombocyten demonstrierte er, daß sich normalerweise ein Drittel der Plättchen in einem mit den übrigen zwei Dritteln frei austauschbaren Reservoir der Milz befinden. Bei Splenomegalie fand er 50 - 90 % aller Thrombocyten in der Milz. Diesen Befund sieht er auch bei ungestörter Plättchenproduktion als genügende Ursache für die Entstehung einer Thrombocytopenie an. Zu gleichen Ergebnissen kam auch Bleifeld (7a) in seiner Arbeit über die Pathogenese der Thrombocytopenie bei Patienten mit Hypersplenismus. Jüngste Untersuchungen von Penny, Rozenberg und Firkin (58) an chirurgisch entfernten und dann transfundierten Milzen bestätigen diese Befunde.

Der Nachweis einer jugendlichen Thrombocytenpopulation mit erhöhten Enzymaktivitäten bei Patienten mit Leberzirrhose und Splenomegalie läßt bei Kenntnis der geschilderten Befunde an folgende Möglichkeit des pathogenetischen Geschehens denken: Im Verlauf der Entstehung der Milzvergrößerung verschwinden mehr und mehr Thrombocyten in dem Milzreservoir, wobei ein beschleunigter Abbau eintreten kann. Das gestörte Fließgleichgewicht zwischen Produktion und Abbau führt kompensatorisch zu einer beschleunigten Bildung von Thrombocyten im Knochenmark. Hierbei kommen dann vermehrt jugendliche Plättchen zur Ausschüttung. Wird die Kapazität der Thrombocytenbildung überschritten und tritt eventuell eine zusätzliche Störung der Thrombocytopoese ein, so entwickelt sich schließlich eine Thrombocytopenie.

Daß die Milzvergrößerung nicht der allein verantwortliche Faktor für die Entstehung einer Thrombocytopenie ist, geht aus der Erfahrung hervor, daß auch ohne klinisch nachweisbare Splenomegalie bei Leberzirrhosen Verminderungen der Plättchenzahlen gesehen werden. So berichtete Korinth (45) über die funktionellen Veränderungen der Thrombocyten bei Leberzirrhosen und fand unter 43 Patienten mit mäßiger bis hochgradiger Thrombocytopenie nur 21 Kranke mit vergrößerter Milz. Es bleibt die Frage offen, ob in diesen Fällen auch eine klinisch nicht vergrößerte Milz einen Einfluß auf die Thrombocytopoese auszuüben oder eine gesteigerte Plättchensequestration hervorzurufen vermag. Unsere Befunde zeigen, daß sich die Thrombocytenpopulationen mit und ohne Milzvergrößerung grundsätzlich in ihrer Enzymausstattung unterscheiden. In diesem Zusammenhang ist es interessant, daß wir bei einem in der statistischen Analyse nicht berücksichtigten Patienten ohne faßbare Splenomegalie eine ungewöhnlich ausgeprägte Erhöhung aller untersuchten Enzymaktivitäten fanden. Dieser Kranke hatte periphere Thrombocytenzahlen von $98.000/\text{mm}^3$, die Leberfunktion war gut kompensiert. Eine Erklärung für diesen Befund vermögen wir im Rahmen unserer Untersuchungen nicht zu geben.

Die von mehreren Autoren (14, 42, 45, 57) gefundene Beeinträchtigung der Thrombocytenfunktion bei Kranken mit Leberzirrhose findet sich sowohl bei normalen als auch bei verminderten Thrombocytenzahlen (14). Es wurde immer

wieder darauf hingewiesen, daß eine Korrelation zwischen Thrombocytenzahl und Thrombocytenfunktion nicht möglich ist. (31, 32, 33, 62, 73) Unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß die Thrombocytenfunktionsstörungen nicht durch einen selektiven Enzymmangel des Energiestoffwechsels erklärt werden können, wie er von Waller und Gross (73) für die Thrombasthenie gefunden wurde. Ob die bei Milzvergrößerung durch Pfortaderhochdruck auftretenden jugendlichen Thrombocyten eine besondere Funktionstörung aufweisen, muß in weiteren Untersuchungen geklärt werden.

V. Zusammenfassung:

1. Die Aktivitäten von 28 Enzymen aus verschiedenen Abschnitten des Energiestoffwechsels und angrenzender Reaktionsschritte (Glykolyse, Pentose-Phosphat-Shunt, Glycerophosphatcyklus, Citratcyklus, Transaminierung, ATP-Spaltung) wurden in isolierten Thrombocyten von 17 gesunden Menschen und 15 Patienten mit Leberzirrhose gemessen.
2. Das Aktivitätsmuster in normalen menschlichen Thrombocyten ist vor allem durch hohe Aktivitäten der Enzyme der Glykolyse gekennzeichnet. Die gefundenen Aktivitäten entsprechen in ihren Meßgrößen weitgehend den von Waller, Löhr und Gross angegebenen Werten. Lediglich die Succinatdehydrogenase und die Malatdehydrogenase wurden mit modifizierten kinetischen Meßmethoden in höherer Aktivität nachgewiesen.
3. Die von Pette und Bücher für verschiedene Gewebe beschriebenen konstanten Proportionen der Enzymaktivitäten des zentralen Segmentes der Glykolyse (Trioseisomerase, Glyceraldehydphosphatdehydrogenase, Phosphoglyceratkinase, Glyceratphosphatmutase und Enolase) findet sich auch in den Thrombocyten als Ordnungsprinzip.
3. Die Aktivitäten der NAD-spezifischen Isocitratdehydrogenase (D-JDH) und der Glycerophosphatoxidase (GPox) wurden erstmalig in Thrombocyten mit relativ hoher Aktivität gezeigt.
4. Die Thrombocyten von Patienten mit Leberzirrhose wiesen als Gesamtgruppe eine signifikant höhere Aktivität einiger Enzyme des Citratcyklus (NAD- und NADP-spezifische Isocitratdehydrogenasen, Succinatdehydrogenase), der Trans- und Desaminierung (Gluamat-Pyruvat-Transaminase, Glutamatdehydrogenase) sowie der Mg^{++} aktivierbaren ATPase auf.

5. Die Aufteilung der Zirrhosepatienten in eine Gruppe mit Milzvergrößerung (8 Kranke) und eine Gruppe ohne Splenomegalie (6 Patienten) ergab nach erneuter statistischer Analyse für die Thrombocyten der Splenomegaliegruppe signifikant höhere Aktivitäten für weitere Enzyme:
Die Glutamatoxalacetat-Transaminase, Glycerophosphatoxidase, Glutathionreduktase sowie aus der Glykolyse die Hexokinase, Phosphoglyceratkinase und Glycerophosphatmutase. Außer der Fructose-6-Phosphatkinase zeigten alle glycolytischen Enzyme starke Aktivitätssteigerungen, die allerdings nicht sämtlich signifikant nachzuweisen waren. Eine auffallende Aktivitätsminderung um den Faktor 2 fand sich für die Laktatdehydrogenase.
6. Bei der Patientengruppe mit Zirrhose ohne Milzvergrößerung fanden sich alle gemessenen Enzymaktivitäten der Thrombocyten im Normalbereich.
7. Nach unseren Kenntnissen über die Enzymausstattung von Blutzellen handelt es sich bei den Thrombocyten mit höherer Enzymaktivität des Energiestoffwechsels um eine jugendliche Zellpopulation. Die hierzu aus der Literatur bekannten Daten, vor allem zu Messung von Enzymaktivitäten an jugendlichen Erythrocyten, werden ausführlich diskutiert.
8. Eine Korrelation dieses Befundes an den Thrombocyten ließ sich nur mit der Milzvergrößerung dieser Patienten, nicht mit der Leberfunktion oder der Thrombocytenzahl finden. Folgende Pathogenese wird auf Grund bekannter Daten diskutiert: im Verlauf der Entstehung der Milzvergrößerung verschwinden mehr und mehr Thrombocyten in dem Milzreservoir, wobei ein beschleunigter Abbau eintreten kann. Kompensatorisch kommen vermehrt jugendliche Thrombocyten zur Ausschüttung aus dem Knochenmark. Bei Erschöpfung dieser Kapazität kann schließlich eine Thrombocytopenie entstehen.
9. Ein Enzymdefekt, ähnlich dem bei Thrombasthenie, konnte nicht gefunden werden.

10. Es wird ein Patient mit Leberzirrhose ohne Splenomegalie beschrieben, dessen Thrombocyten eine ungewöhnlich ausgeprägte Aktivitätssteigerung fast aller gemessenen Enzyme aufwiesen. Eine Erklärung dieses Befundes ist bisher nicht möglich.

VI. Methodik:

1. Thrombocytenisolierung und Praeparation.

Die Blutentnahme erfolgte am Untersuchungstag durch Punktieren einer Armvene mit einer doppelt geschliffenen V_2A -Kanüle. Das Blut wurde mittels Blutentnahmegarnituren "Donafix" der Firma Braun/Melsungen direkt in 16 in einem Eisbad stehende, aus dem Kunststoff "Nalgene^R" hergestellte Zentrifugenröhrchen eingeleitet. Sodann wurden Blut und das vorher schon in die Zentrifugenröhrchen pipettierte Antikoagulans (Zusammensetzung siehe Seite 46) durch vorsichtiges Umdrehen gut durchmischt, nachdem die Röhrchen vorher mit einer Plastikfolie verschlossen worden waren. (Verhältnis Blut zu Antikoagulans = 9 : 1)

Entnommen wurden sowohl den klinisch normalen Personen als auch den Zirrhosepatienten jeweils ca. 140 ml Blut ($16 \cdot 9$ ml). Zur Entnahme dieser im Vergleich zu den Angaben in der Literatur geringen Menge wurden wir vorallem durch den Zustand der Patienten veranlaßt, denen keine größeren Blutentnahmen zugemutet werden konnten.

Anschließend wurde sofort für 15 Minuten mit $30 \times g$ zentrifugiert. ("Sorvall"-Kühlzentrifuge, Typ "Superspeed RC 2", Einstellung: $+4^{\circ}C$) Das überstehende Plasma wurde vorsichtig mit silikonisierten Pipetten abgehebert, (Methode des Silikonisierens Seite 46), das Sediment verworfen. Die Weiterverarbeitung des Überstandes, wie überhaupt alle weiteren Arbeitsgänge, geschah nur in silikonisierten Glasgeräten und "Nalgene^R"-Kunststoffröhrchen. Das überstehende, thrombocytenreiche Plasma wurde in 8 Zentrifugenröhrchen pipettiert, die bei $+4^{\circ}C$ vorgekühlt waren, und dann für 15 Minuten bei $120 \times g$ zentrifugiert. Der Überstand, d.h. das thrombocytenfreie Plasma, wurde dekantiert und verworfen, das Sediment, die Thrombocyten, wurde sodann mit jeweils 0,5 ml Humanalbumin-Kochsalz-Phosphat-Puffer (Zusammensetzung siehe Seite 46) pro Röhrchen abgespült, ohne das Sediment zu lösen, um Serumreste zu eliminieren.

Um den Effekt dieses Abspülens zu prüfen, wurden elektrophoretische Paralleluntersuchungen am Überstand gewaschener und nur gespülter Thrombocyten vorgenommen und mit dem thrombocytenfreien Plasma verglichen.

Insgesamt wurden die Thrombocyten viermal gewaschen und viermal gespült und sowohl die Überstände nach jedem Waschen als auch die Sedimente nach jedem Spülen elektrophoretisch auf Serumproteine untersucht und mit der Elektrophorese des thrombocytenfreien Plasmas verglichen. Hierbei konnten wir feststellen, daß der absolute Gehalt an Serumproteinen mit wachsender Anzahl der Waschungen bzw. Spülungen abnahm, die einzelnen Fraktionen aber in allen Überständen in gleichen Relationen wie im Serum nachweisbar waren. Außerdem war zu erkennen, daß in den Überständen der gewaschenen Thrombocyten weniger Serumproteine zu finden waren als in denen der nur abgespülten Thrombocyten, daß aber dieser Effekt erst nach der zweiten Waschung deutlich hervortrat. Wir entschlossen uns daher, nur eine einmalige Spülung vorzunehmen, um eine zusätzliche mechanische Alteration der Plättchen durch das mehrmalige Lösen des Sedimentes und das wiederholte Zentrifugieren zu vermeiden. Waller, Löhr, Grignani und Gross (72) haben auch festgestellt, daß mehrmaliges Waschen erhebliche Einbußen an meßbarer Enzymaktivität bringt.

Durch das Zentrifugieren bei nur $120 \times g$ war es möglich, das Thrombocytensediment durch Zugabe von Puffer und leichtes Schütteln zu lösen, sodaß eine zusätzliche mechanische Alteration der Plättchen durch Umrühren vermieden werden konnte.

Unabhängig von der absoluten Zahl der isolierten Thrombocyten wurden diese in einem festen Volumen von 9 ml Humanalbumin-Kochsalz-Phosphat-Puffer suspendiert und die Suspension sodann auf eine Endkonzentration von 1 mM ADP und 10 mM GSH gebracht. Der Zusatz von GSH und ADP erfolgte, um die Enzyme gegen eine Oxydation bei der weiteren Aufbereitung zu schützen. ADP verhindert vorallem den frühzeitigen Aktivitätsverlust von NAD-spezifischer Isocitrat-Dehydrogenase (D-IHD).

In der Suspension wurde dann nach der Methode von Feisly und Lüdén (24) von zwei verschiedenen Personen jeweils durch Doppelbestimmungen im Phasenkontrastmikroskop die Thrombocytenzahl festgestellt. Diese Zahlen wurden dann später in die Berechnungen einbezogen, sodaß eine zusätzliche Einstellung und damit eine weitere Fehlerquelle eliminiert werden konnte.

Versuche, eine bessere Bezugsgröße für die Enzymaktivitätsbestimmungen zu finden, das heißt, die gemessenen Enzymaktivitäten nicht auf die Thrombocytenzahl, sondern auf den Gehalt an Zellprotein zu beziehen, führten zu keinem brauchbaren Ergebnis. Eine Erklärung ist in dem immer noch relativ hohen Gehalt der Überstände an Serumproteinen zu sehen.

Die Thrombocyten wurden sofort weiterverarbeitet, um einen Aktivitätsverlust der Enzyme zu verhindern (49), obwohl einige Enzyme nach einer Thrombocytenkonservierung auch über längere Zeit keinen Aktivitätsverlust zeigen (2).

Nach der Zählung zytolysierten wir die Plättchen sofort für 4 · 30 Sekunden mit dem "Ultraturax" (Fa. Janke und Kunkel). Hierfür wurde die Thrombocyten-suspension in ein Eisbad gebracht, um Hitzeeinwirkungen zu vermeiden. Anschließend wurden die Stromata bei 12100 x g in der "Sorvall"-Kühlzentrifuge zur Sedimentation gebracht, der Überstand dekantiert und für die Enzymbestimmungen in einem Eisbad aufbewahrt.

Die Stromata wurde in 2 ml Phosphat-EDTA-Puffer, pH 7,6, gelöst, in einem "Potter"-Homogenisator zerkleinert und für die Bestimmung strukturgebundener Enzyme ebenfalls in ein Eisbad gebracht. Beide Suspensionen wurden sofort verarbeitet.

2. Puffer und Antikoagulantien:

Humanalbumin-Kochsalz-Phosphat-Puffer (nach Waller, Löhr, Grignani und Gross (72))

0,81 g NaCl

0,0174 g KH_2PO_4

0,096 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$

1,5 g Humanalbuminkrist. "reinst" (Behringwerke/Marburg)

Der Puffer wurde zunächst mit 3M KOH auf pH 7,5 eingestellt und dann das Humanalbumin gelöst.

Antikoagulans:

26 ml Kollidon (25 % Periston, "Bayerwerke"/Leverkusen)

70 ml 0,9 % NaCl - Lösung

5 g Titriplex III ("Merck" /Darmstadt)

(Braunsteiner et al. (13) hat 1952 auf die gute Brauchbarkeit von Polyvinyl-Pyrolidin zur Anreicherung und Isolierung von Thrombocyten und Leucozyten hingewiesen.)

3. Silikonisierung der Pipetten und Glasgeräte:

Waschen der Glasgeräte in Chrom - Schwefelsäure für einen Tag, anschließend in heißem Leitungswasser, Aq. dest. und Aq. bid. Trocknen für 12 Stunden im Trockenschrank.

Mehrmaliges Aufziehen einer Silikonlösung folgender Zusammensetzung:

2 ml Silikon-Öl "AK 350" der Firma "Wacker - Silicone" München

98 ml Tetrachlorkohlenstoff (CCl_4)

Trocknen bei 150 - 200° C im Trockenschrank.

4. Enzymbestimmungen:

Alle Enzymbestimmungen wurden bei Standardbedingungen durchgeführt, also bei einem pH von 7,6 und einer konstanten Temperatur von 25° C. Die Schichtdicke der Küvetten war bei allen Versuchen 1,0 cm, das Testvolumen 0,5 ml. Um mit diesen relativ kleinen Mengen arbeiten zu können, wurden Spaltküvetten verwendet.

Die Messungen wurden am Photometer "Eppendorf" der Firma Netheler und Hinz, Hamburg-Eppendorf, bei einer festen Wellenlänge von 366 mμ durchgeführt. (Prinzip siehe bei Racker /63.) Für die Testung der GPox und der SDH wurde bei 405 mμ gemessen. Als Schreiber diente uns ein Kompensationsgerät der Firma Philips mit Zusatzgetriebe und einer Transformationsbrücke der Firma Netheler und Hinz, Typ "Eppendorf".

Zum Pipettieren verwendeten wir neben Glasgeräten die automatischen Pipetten, Typ "Marburg" der Firma Netheler und Hinz, Hamburg.

5. Testzusammensetzung:

Die Enzyme wurden nach den von Bücher, Luh und Pette (16) angegebenen, standardisierten Testen bestimmt, die genaue Zusammensetzung wird für jedes gemessene Enzym unten aufgeführt, da wir die Testzusammensetzung teilweise modifizierten. Die Hilfsenzyme wurden jeweils in optimaler Konzentration zugesetzt. Die Nummerierung erfolgte nach der in Tabelle I angegebenen Reihenfolge.

2. Phosphoglukomutase (PGM)

TRAP	50 mM
EDTA	5 mM
MgSO ₄	8 mM
Cystein	10 mM
NADP	0,4 mM
G-1-P	16 mM
G-6-PDH	

0,100 ml Thrombolysat, Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit G-1-P.

3. Hexokinase (HK)

TRAP	50 mM
EDTA	5 mM
MgSO ₄	8 mM
NADP	0,4 mM
ATP	1,5 mM
Glukose	1,0 mM
G-6-PDH	

0,100 ml Thrombolysat, Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit Thrombolysat.

4. Hexosephosphat-Isomerase (PGI)

TRAP	50 mM
EDTA	5 mM
NADP	0,4 mM
F-6-P	1,6 mM
G-6-PDH	

0,100 ml Thrombolysat, Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit Thrombolysat.

5. Fruktose-6-phosphat-Isomerase (F-6-PK)

TRAP	50 mM
EDTA	5 mM
MgSO ₄	8 mM
ATP	1,5 mM
NADH	0,15mM
F-6-P	1,6 mM

TIM

ALD

GDH

0,100 ml Thrombolysat, Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit Thrombolysat.

6. Fruktose-di-Phosphatase
(FDP)

TRAP	50	mM
EDTA	5	mM
MgSO ₄	8	mM
NADP	0,4	mM
Cystein	5	mM
FDP	0,2	mM
PGI		
G-6-PDH		

0,100 ml Thrombolysat, Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit Thrombolysat.

7. Fruktose-1,6-diphosphat-Aldolase
(ALD)

TRAP	50	mM
EDTA	5	mM
NADH	0,15	mM
FDP	4	mM
TIM		
GDH		

0,100 ml Thrombolysat, Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit Thrombolysat.

8. Triosephosphat-Isomerase
(TIM)

TRAP	50	mM
EDTA	5	mM
NADH	0,15	mM
GAP	1,0	mM
GDH		

Der Start erfolgte d. Fischer-
ester, der Nachstart mit
Thrombolysat, wobei der durch
FE bedingte Verlauf von der
Eigenreaktion abgezogen wurde.
(Thrombolysat 0,050 ml)

9. Glycerinaldehyd-3-phosphat-
Dehydrogenase (GAPDH)

TRAP	50	mM
EDTA	5	mM
MgSO ₄	3,3	mM
NADH	0,15	mM
GSH	2,4	mM
ATP	1,5	mM
3-PGS	7	mM
PGK		

0,100 ml Thrombolysat. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit Thrombolysat.

10. 3-Phosphoglycerat-Kinase
(PGK)

TRAP	50	mM
EDTA	5	mM
MgSO ₄	6,6	mM
NADH	0,15	mM
GSH	2,4	mM
ATP	1,5	mM
3-PGS	14	mM
GAPDH		

0,100 ml Thrombolysat. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit Thrombolysat.

12. Enolase (EN)

TRAP	50	mM
EDTA	5	mM
KCl	75	mM
MgSO ₄	8	mM
ADP	1,0	mM
NADH	0,15	mM
2-PGS	0,8	mM
PK		
LDH		

0,100 ml Thrombolysat. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit Thrombolysat.

11. Glycerat-Phosphat-Mutase
(GPM)

TRAP	50	mM
EDTA	5	mM
KCl	75	mM
MgSO ₄	8	mM
NADH	0,15	mM
ADP	1,0	mM
2,3-PGS	0,5	mM
3-PGS	7	mM
EN		
PK		
LDH		

0,100 ml Thrombolysat. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit Thrombolysat.

13. Phosphoenolpyruvat-Kinase (PK)

TRAP	50	mM
EDTA	5	mM
KCl	75	mM
MgSO ₄	8	mM
ADP	1,5	mM
NADH	0,15	mM
PEP	0,8	mM
LDH		

0,100 ml Thrombolysat. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit Thrombolysat.

14. Laktatdehydrogenase (LDH)

TRAP	50	mM
EDTA	5	mM
NADH	0,15	mM
Pyruvat	2,4	mM

0,100 ml Thrombolytat. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit Thrombolytat.

16. Glycerophosphat-Dehydro- genase (GDH)

TRAP	50	mM
EDTA	5	mM
NADH	0,15	mM
DAP	0,2	mM

0,100 ml Thrombolytat. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit DAP.

34. Glutamat-Dehydrogenase (GluDH)

TRAP	50	mM
EDTA	5	mM
(NH ₄) ₂ SO ₄	40	mM
NADH	0,15	mM
-KG	3	mM

0,200 ml Thrombolytat. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit -Ketoglutarat.

15. Glycerin-1-phosphatoxydase (PGox)

K-Na-Phosphat	100	mM
EDTA	5	mM
Albumin	0,4	mg/ml
KCN	1,0	mM
K ₃ Fe(CN) ₆	1,0	mM
1- GP	20	mM

0,050 ml Sedimentextrakt. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte mit
Ferricyanid.

17. Glukose-6-phosphat-Dehydro- genase (G-6-PDH)

TRAP	50	mM
EDTA	5	mM
NADP	0,4	mM
G-6-P	2,0	mM

0,100 ml Thrombolytat. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit G-6-P.

35. Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT)

K-Phosphat	100	mM
EDTA	5	mM
NADH	0,15	mM
-KG	7	mM
1-Alanin	40	mM
LDH		

0,100 ml Thrombolytat. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit d,1-Alanin.

36. Adenylat-Kinase (AdK)

TRAP	50	mM
EDTA	5	mM
KCl	75	mM
MgSO ₄	8	mM
NADH	0,15	mM
AMP	3	mM
ATP	3	mM
PEP	0,8	mM
PK		
LDH		

0,100 ml Thrombolysat. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit AMP, Nachstart mit Extrakt.

37. Glutathionreduktase (GR)

TRAP	50	mM
Albumin-TRAP	10	mg/ml
GSSG	10	mM
NADPH	0,5	mM

0,100 ml Thrombolysat. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit Thrombolysat.

38. Mg⁺⁺aktivierte ATPase

Na-Citrat	50	mM
NADH	0,30	mM
MgCl ₂	25	mM
KCl	80	mM
ATP	6	mM
PEP	0,8	mM
PK		
LDH		

0,100 ml Thrombolysat. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit Thrombolysat.

39. Malic-Enzyme (ME)

TRAP	50	mM
EDTA	5	mM
MgSO ₄	8	mM
NADP	0,4	mM
l-Malat	2	mM

0,200 ml Thrombolysat. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit l-Malat.

19. 6-Phosphogluconatdehydrogenase (6-PGDH)

TRAP	50	mM
EDTA	5	mM
MgSO ₄	8	mM
NADP	0,4	mM
6-PGS	1,0	mM

0,100 ml Thrombolysat. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit 6-PGS.

26. Isocitratdehydrogenase
(NADP-spez.) (T-IDH)

TRAP	50	mM
EDTA	5	mM
MgSO ₄	8	mM
NADP	0,4	mM
d-Isocitrat	0,8	mM

0,200 ml Thrombolysat. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit Thrombolysat.

27. Isocitratdehydrogenase
(NAD-spez.) (D-IDH)

K-H ₂ -Phosphat	100	mM
K ₂ -H-Phosphat		
MgCl ₂	8	mM
NAD	2	mM
d-Isocitrat	0,8	mM
ADP	2	mM

0,200 ml Thrombolysat. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit Isocitrat.

30. Succinatdehydrogenase (SDH)

K-Na-Phosphat	100	mM
EDTA	5	mM
Albumin	0,4	mg/ml
KCN	1,0	mM
Succinat	15	mM
K ₃ Fe(CN) ₆	0,5	mM
	1,0	mM

0,050 ml Sedimentextrakt. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte mit
Ferricyanid.

32. Malatdehydrogenase
(MDH)

TRAP	50	mM
EDTA	5	mM
NADH	0,15	mM
CAA	0,2	mM

0,100 ml Thrombolysat. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit Oxalacetat.

33. Glutamat-Oxalacetat-
Transaminase (GOT)

K-Phosphat	100	mM
EDTA	5	mM
NADH	0,15	mM
-KG	5	mM
Aspartat	30	mM
MDH		

0,100 ml Thrombolysat. Aq. bid.
ad 0,500 ml. Der Start erfolgte
mit l-Aspartat.

6. Verzeichnis der gebrauchten Abkürzungen:

In Tabelle I sind die internationalen Abkürzungen für die von uns gemessenen Enzyme angegeben. Die in Absatz 5, "Testzusammensetzung", aufgeführten Hilfsenzyme für die zusammengesetzten Tests waren Erzeugnisse der Fa. C.F. Boehringer /Mannheim.

a. Verwendete Substrate und Coenzyme: (Firmennamen in Klammern)

AMP	Adenosin-5-monophosphat (Boe) ^{†)}
ADP	Adenosin-5-diphosphat (Boe)
ATP	Adenosin-5-triphosphat (Boe)
l-Alanin	d, l-Alanin (Boe)
Aspartat	l(+)-Asparaginsäure (Rie) ^{††)}
Cystein	l-Cysteinhydrochlorid (Rie)
DAP	Dihydroxyacetonphosphat (Boe)
FDP	Fructose-1,6-diphosphat (Boe)
F-6-P	Fructose-6-phosphat (Boe)
GAP	Glycerinaldehydphosphat (Boe)
Glucose	Glucose (Me) ^{†††)}
G-1-P	Glucose-1-phosphat (Boe)
G-6-P	Glucose-6-phosphat (Boe)
GSH	Glutathion (reduziert) (Boe)
GSSG	Glutathion (oxydiert) (Boe)
-GP	d, l- -Glycerophosphat (Fluka)
Albumin	Humanalbumin "reinst" (Behringwerke/Marburg)
Isocitrat	d, l-Isocitrat (Sigma/USA)
-KG	-Ketoglutarat (Boe)
Kreatin	Kreatin (Me)
OAA	Oxalacetat (Boe)
PEP	Phosphoenolpyruvat (Boe)

†) = Fa. C.F. Boehringer & Söhne, Mannheim

††) = Fa. Riedel - de Haen

†††) = Fa. Merck A.G. Darmstadt

2-PGS	2-Phosphoglycerat (Boe)
2, 3-PGS	2, 3-Phosphoglycerat (Boe)
3-PGS	3-Phosphoglycerat (Boe)
6-PGS	6-Phosphoglycerat (Boe)
Succinat	Na-Succinat (Me)

b. Verwendete Chemikalien:

KCl (Merck)
KCN (Riedel - de Haen)
 $K_3 Fe(CN)_6$ (Merck)
 $MgCl_2$ (Merck)
 $MgSO_4$ (Merck)
 $(NH_4)_2SO_4$ (Riedel - de Haen)

c. Puffersubstanzen:

EDTA Äthylendiamintetraacetat (Merck)
TRAP Triäthanolamin (Merck)

Na-Citrat (Riedel - de Haen)
 Na_2CO_3 (Riedel - de Haen)
 $NaHCO_3$ (Merck)
 Na_2HPO_4 (Merck)
 KH_2PO_4 (Merck)

7. Mathematischer Anhang:

a. Berechnung des Mittelwertes:

$$\bar{x} = \frac{\sum x'}{N}$$

b. Ermittlung der Standardabweichung:

$$s_1^2 = \frac{\sum dx'^2}{N(N-1)} \quad \text{bzw.} \quad s_2^2 = \frac{\sum dx''^2}{N(N-1)}$$

$\bar{x}$ = Mittelwert

dx = Differenz jedes Einzelwertes vom Mittelwert

x = Gemessener Einzelwert

N = Zahl der Versuche

s = Standardabweichung
= Summe von

t = Prüfquotient

p = Signifikanzfaktor

c. Signifikanzprüfung zweier Durchschnitte: (47)

Für das Prüfen der Unterschiede $\bar{x}' - \bar{x}''$ zwischen zwei Durchschnitten läßt sich die t-Verteilung (Studenttest) anwenden. Der Durchschnitt $\bar{x}'$ besteht aus N_1 Werten x' , der Durchschnitt $\bar{x}''$ aus N_2 Werten x'' . Die Streuung berechnet sich nach:

$$s^2 = \frac{1}{N_1 + N_2 - 2} \left(\sum_{i=1}^{N_1} (x'_i - \bar{x}')^2 + \sum_{i=1}^{N_2} (x''_i - \bar{x}'')^2 \right)$$

Hierauf läßt sich t bestimmen nach:

$$t = \frac{\bar{x}' - \bar{x}''}{s} \cdot \sqrt{\frac{N_1 \cdot N_2}{N_1 + N_2}}$$

Die Zahl der Freiheitsgrade ist $N_1 + N_2$. Das ermittelte t wird in einer Tabelle (22) für die angegebenen Freiheitsgrade aufgesucht und p abgelesen.

VII. Tabellarischer Anhang:

1. In Tabelle XVIII sind die klinischen Daten und Laborwerte aller Patienten mit Leberzirrhose angeordnet.
2. In Tabelle XIX sind alle Meßergebnisse der Kontrollpersonen aufgeführt, in Tabelle XX die Meßergebnisse der Patienten Nr. 1 - 14. Die Meßdaten des gesondert besprochenen Patienten Nr. 15, H.F., sind in Tabelle XVI zusammengefaßt und anschließend diskutiert.

Nr. Names	1. Pe.	2. Pl.	3. Bo.	4. Fr.	5. Do.	6. Wi.	7. Ka.	8. He.	9. Wir.	10. Mu.	11. Kl.	12. Ro.	13. Mo.	14. We.	15. Fi.
Alters	47J	39J	48J	60J	64J	68J	71J	58J	51J	42J	45J	67J	41J	52J	50J
Geburtsdatum:	21.3.1918	17.8.1926	30.8.1916	3.12.1909	25.4.1901	8.4.1897	20.6.1894	1.2.1907	29.6.1904	24.3.1923	1.11.1921	27.12.1898	30.11.1924	11.8.1913	30.3.1915
Geschlecht:	männl.	männl.	männl.	weibl.	männl.	weibl.	weibl.	männl.	weibl.	männl.	männl.	weibl.	männl.	männl.	männl.
Vorgeschichte:					Vorg										
Hepatitis:	+	+	+	+	?	?	?	+	+	+	+	-	-	-	?
Alkohol:	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
And. Fakt.:	Hungerdysr.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	Diabetes	Diabetes	-
Dauer d. Zirrhose	1964	1963	1960	1965	1965	1965	1965	1963	1965	1965	1964			1966	1964
Lebervergrößerung	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Milzvergrößerung	-	-	Splenekt.63	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Ascites	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-
Oesophagusvarizen	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-
Haematemesis	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-
Hautzeichen	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-
Laborbefunde:															
Hb:	14,6 g%	12,1 g%	15,3 g%	9,7 g%	17,6 g%	14,4 g%	16,6 g%	16,0 g%	16,2 g%	17,3 g%	14,2 g%	14,4 g%	14,4 g%	15,9 g%	15,2 g%
Erythrocyten:	4,6 Mill.	3,7 Mill.	4,1 Mill.	3,1 Mill.	4,7 Mill.	3,4 Mill.	3,9 Mill.	4,2 Mill.	4,2 Mill.	5,0 Mill.	3,8 Mill.	3,9 Mill.	3,9 Mill.	3,9 Mill.	4,3 Mill.
Leukocyten:	5.000	7.500	9.100	8.500	15.900	7.100	10.400	6.900	12.600	13.800	3.400	7.000	7.300	7.500	5.400
Thrombocyten:	126.000	115.000	108.000	440.000	128.000	91.000	132.000	140.000	92.000	153.000	58.000	249.000	112.000	83.000	98.000
Bromthaleint.	18 %	11 %		12 %		35 %		19 %	19 %		34 %				
Serum-Eisenz.	248 %	103 %	143 %	69 %	97 %	125 %	218 %	95 %	137 %	144 %		37 %	5 %	1 %	14 %
Bilirubin:	1,2 mg%	0,9 mg%	1,6 mg%	0,3 mg%	1,5 mg%	1,6 mg%	4,5 mg%	1,0 mg%	0,8 mg%	0,6 mg%	2,1 mg%	0,9 mg%	188 %	176 %	125 %
Kreatinin:	0,8 mg%	0,7 mg %	1,0 mg%	0,6 mg%	2,3 mg%	0,7 mg%	1,1 mg%	0,6 mg%		1,2 mg%	1,0 mg%	0,9 mg%	0,7 mg%	0,4 mg%	1,1 mg%
Ges.Eiweiß:	7,0 g%	8,0 g%	6,4 g%	8,2 g%	7,2 g%	7,7 g%	6,6 g%	7,1 g%	6,1 g%	7,2 g%	6,7 g%	8,0 g%	6,5 g%	6,9 g%	7,6 g%
Albumin:	55 rel.%	51 rel%	50 rel.%	43 rel%	55 rel.%	36 rel.%	41 rel%	38 rel.%	53 rel.%	56 rel.%	44 rel.%	42 rel.%	55 rel.%	58 rel.%	52 rel.%
-Glob.:	4	3	4	4	5	5	4	6	3	4	4	6	4	3	3
-Glob.:	8	9	6	6	7	7	6	7	6	10	7	6	10	10	6
-Glob.:	13	14	11	14	9	11	10	14	11	13	10	11	11	12	12
-Glob.:	20	23	29	33	24	41	39	35	27	17	35	35	20	17	27
SGOT	24 U/l	9 U/l	26 U/l	12 U/l	5 U/l	22 U/l	13 U/l	34 U/l	11 U/l	14 U/l					
SGPT									12 U/l						
Alkal.Phosph.	25 U/l	15 U/l	15 U/l	30 U/l	22 U/l	77 U/l	30 U/l	337 U/l	23 U/l	23 U/l	35 U/l	20 U/l	52 U/l	16 U/l	30 U/l
Thrombocyten im Extrakt:	760.000 /ml	900.000 /ml	1.200.000/ml	1.120.000/ml		790.000	340.000	796.000	390.000	660.000	275.000	700.000	580.000	276.000	98.000
Portokav.Anas.	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Histologie:	Fortschreitende Leberzirrhose	Fortschreitende Leberzirrhose	Kleinknotige Zirrhose		Fortschreitend. zir. Umbau	Feinknotiger Umbau d.Leber	-	Cholestase mit aktivem zirr. Umbau	Chron.Hepati- tis m.zirr.Um- bau.Leberzirrh.	Postnekrotische Zirrh.mäßiger Aktivität	Fortschreitende Leberzirrhose	Fortschreitende Leberzirrhose	Fortschr.zirrho- tischer Umbau	-	-
Laparoskopie:	-	-	-	Grob- und feinknotige Zirrhose, reichlich Bin- degewebe	-	Feinknotiger Umbau d.Leber, schwere,atro- phische klein- knotige Zirrh.	Fein- und grob- höckrig veränd- erte Leber. Leberzirrhose	-	-	-	-	-	-	Leber mittel- bis grobhöck- rig Leberzirrhose	Fein- und grob- höckrig veränd- erte Leber. Leberzirrhose

Tabelle XVIII: Klinische Daten und Laborwerte aller Patienten mit Leberzirrhose.

Lfd. Nr.	Name	Alter	Geschl.	Unters. Nr.	Dat. d. Unters.	Thromboc. im periph. B.	2. PGM	3. HK	4. PGI	5. F-6-PK	6. FDP	7. Ald
1.	Eg.	41 J.	m	II	23.8.65	290.000	85	127	3660	840	29	568
2.	Le.	24 J.	m	III	26.8.65	165.000	258	43	4.230	563	9	1.210
3.	Ke.	27 J.	m	IV	30.8.65	190.000	420	72	3.050	647	65	958
4.	Au.	22 J.	w	V	1.9.65	380.000	197	61	6.360	2.400	55	1.198
5.	Sch.	28 J.	m	VI	3.9.65	310.000	195	43	6.170	970	11	1.640
6.	Ga.	23 J.	m	VII	6.9.65	187.000	330	38	4.540	1.135	15	1.210
7.	Ro.	23 J.	w	XII	8.9.65	243.000	132	26	756	834	28	984
8.	Ho.	22 J.	w	XIII	23.9.65	172.000	82	66	2.860	617	29	1.320
9.	Tei.	24 J.	m	XIV	24.9.65	184.000			3.550			1.197
10.	Ja.	31 J.	m	XV	30.9.65	420.000	140	150	3.190	319	20	720
11.	Be.	55 J.	w	XVII	10.10.65	154.000	200	80	9.070	640	24	2.130
12.	St.	25 J.	m	XXI	26.10.65	342.000	146	91	3.220	324		252
13.	He.	25 J.	w	XXII	28.10.65	212.000	72	75	1.662	528	31	750
14.	Wo.	27 J.	m	XXIII	3.11.65	195.000	146	164	4.660	432	36	2.520
15.	Br.	25 J.	w	XXIV	11.11.65	320.000	61	77	3.320	1.108	50	780
16.	Wo.	26 J.	w	XXV	16.11.65	303.000	91	91	2.420	787	37	1.390
17.	Ma.	25 J.	m	XXVII	2.12.65	287.000	154	88	4.100	1.580	103	1.990

Tabelle XIX: Alle Messergebnisse der Kontrollpersonen.

Zahlenwerte bedeuten Einheit = Mol / h¹¹ / 10¹¹ Plättchen unter Standardbedingungen.

Lfd. Nr.	8. TIM	9. GAPDH	10. PGK	11. GPM	12. EN	13. PK	14. LDH	15. GDH	16. GPox	17. G-6-PDH	18. 6-PGDH
1.	34.000	2.230	2.500	396	677	532	7.320	40	5.525	151	100
2.	48.500	3.810	3.150	243	405	1.093	17.050	32	4.350	366	57
3.	50.000	3.240	2.900			650	14.300	52	9.300	324	46
4.	65.000	2.150	1.390	786	917	1.211	10.900	29	4.965	483	139
5.	78.000	3.240	2.160	975	975	1.490	19.500	34	4.435	453	85
6.	60.600	3.400	2.120	642	917	985	13.600	21	4.970	303	54
7.	73.800	1.510	945	1.220	1.140	756	30.300	13	5.815	303	62
8.	35.400	2.420	1.765	660	660	1.150	12.350	25	4.220	351	62
9.		2.840	1.630		822						
10.	28.000	1.435	1.200	478	774	1.355	2.800	7	4.560	558	40
11.	19.800	2.650	2.190	208	1.350	4.020	17.110	21	3.350	1.610	192
12.	35.400	1.460	1.640	324	586	1.040	6.000		4.125	423	132
13.	25.800	1.440	1.540	159	606	985	12.100	28	4.660		113
14.	43.300	2.440	2.240	577	505	2.660	13.000	121	6.850	720	144
15.	55.400	2.220	1.940	610	556	1.440	5.550	249	3.975	389	83
16.	60.700	1.610	1.395	606	425	1.105	4.670	50	2.470	752	140
17.	54.500	2.050	1.995	410	470	1.175	23.750	78	3.052	585	88

Lfd. Nr.	26. T-IDH	27. D-IDH	28. SDH	29. MDH	33. GOT	34. GluDH	35. GPT	36. AdK	37. GR	38. Mg ⁺⁺ ATPase	39. ME
1.	57	51	1.240	4.680	279	28	79	37	408		57
2.	24	25	1.020	3.000	183	49	91		975		9
3.	49	65	2.390	6.480	96	16	81	218	647		8
4.	91	40	870	5.460				516	612		12
5.	73	65	1.590	5.680	259	65	129	910	977	367	
6.	32	68	1.395	4.200	303		95	756	606	756	
7.	89	19	1.830	15.100				756	756	309	47
8.	45	44	2.035	3.740	202	11	35	442			17
9.						12					16
10.	45	10	2.280	1.800	156	12	20	400	402	177	16
11.	74	48	1.675	4.280	406	27	27	747	535	402	27
12.	60	71	1.730	2.110	113	10	31	422	260	407	10
13.	49	64	2.485	4.400	189	19	134		455	455	19
14.	235	36	4.110	1.380	468	63	108	360	577	1.810	29
15.	76		1.790	2.760	337	28	137	166	560	2.210	28
16.	83		1.740	2.130	486		60	486	606	960	17
17.	198	64	2.035	17.300	146			322	470	594	23

Lfd. Nr.	Name	Alter	Geschl.	Unters. Nr.	Dat. der Unters.	Thromboc. im periph. Bl.	2. PGM	3. HK	4. PGI	5. F-6-PK	6. FDP	7. ALD
1.	Pe.	47 J.	m	VIII	8.9.65	126.000	844	55	9.270	1.197	46	1.378
2.	PL.	39 J.	m	IX	13.9.65	115.000	378	33	2.775	540	20	756
3.	Bo.	48 J.	m	X	15.9.65	108.000	171	21	2.460	570	15	570
4.	Fr.	60 J.	w	XI	16.9.65	440.000	478	46	2.030	648	41	895
5.	Do.	64 J.	m	XVI	31.9.65	128.000	169	178	2.740	219	20	548
6.	Wi.	68 J.	w	XIX	14.10.65	91.000	52	57	2.990	345	29	403
7.	Ka.	71 J.	w	XX	25.10.65	132.000	427	162	13.320	677	34	935
8.	He.	58 J.	m	XXVI	1.12.65	140.000	245	74	7.325	1.165	220	1.350
9.	Wi.	51 J.	w	XXVIII	17.12.65	92.000	198	175		1.345	47	2.920
10.	Mü.	42 J.	m	XXIX	22.12.65	153.000	299	131	6.540	1.032		3.030
11.	Kl.	45 J.	m	XXX	8.2.66	58.000	487	372	5.000	810	44	1.110
12.	Ro.	67 J.	w	XXXI	10.2.66	249.000	518	174	11.350	647		845
13.	Mo.	41 J.	m	XXXII	11.2.66	112.000	195	98	6.470	773		1.320
14.	We.	52 J.	m	XXXIII	20.2.66	83.000	115	115	3.460	990	102	1.150

Tabelle XX: Die Meßergebnisse der Patienten Nr. 1 - 14 mit Leberzirrhose

Zahlenwerte bedeuten Einheit = Mol/hr/10¹¹ Plättchen unter Standardbedingungen.

Lfd. Nr.	8. TIM	9. GAPHD	10. PGK	11 GPM	12. EN	13. PK	14. LDH	15. GDH	16. GPox	17. G-6-PDH	18. 6-PGDH
1.	65.000	2.990	1.915	955	1.255	1.860	17.900	22	6.140	372	66
2.	30.200	1.860	1.060	354	654	910	7.080	13	9.820	126	36
3.	25.000	1.060	945	152	457	570	1.910	11	6.180	96	21
4.	62.500	2.520	745	122	384	447	23.350	20	13.180	222	37
5.	36.600	2.190	1.645	547	1.095	1.645	10.950	13	9.120	493	55
6.		1.720	1.670	630	518	1.440	25.400		5.930	518	57
7.		7.070	4.820	1.485	2.050		18.250	141	10.680		144
8.	42.400	2.070	2.415	518	630	2.020	4.680	24	9.900	918	250
9.	34.800	3.720	3.500	732	930	5.825	6.850	417	16.775	745	75
10.	96.000	3.440	2.895	690	1.045	2.200	8.100	15	8.560	755	278
11.	32.100	3.550	3.740	1.950	1.620	1.610	8.470	108	5.820	1.355	130
12.	13.000	1.640	1.950	780	975	1.170	6.950	675	18.600	454	111
13.	82.000	3.140	2.810	1.020	942	1.610	4.940	388	11.300	78	101
14.	59.200	3.290	2.965	990	822	990		66	14.400	1.345	264

Lfd. Nr.	26. T-IDH	27. D-IDH	28. SDH	29. MDH	33. GOT	34. GluDH	35. GPT	36. ADK	37. GR	38. Mg ⁺⁺ ATPase	39 ME
1.	85	45	2.340	10.350	250	12	35	298	895	2.250	14
2.	21	51	3.640	4.920	76	12	25	1.610	504	1.330	16
3.	12	42	2.940		93	10	15	650	266	190	8
4.	61	12	5.120	8.520	267	25	42	446	569	708	21
5.	59	55	4.560	2.460	246	8	137	328	384	219	20
6.	22	50	3.760	2.970	154	51	55	468	345	3.870	15
7.	182	127	9.720	10.700	868		468	1.200	1.070	8.350	84
8.	255	72	5.900	17.000	1.165		630	288	863	1.120	32
9.	180	87	13.420	5.820	292	131	369	582	930	755	58
10.	147	62	4.620	3.100	214	54	138	685	482	585	26
11.	447	129	3.930	10.400	648	65	487	1.465	1.295	3.240	402
12.	455	163	5.350	4.540	260	65	130	357	1.100	2.270	49
13.	194	74	6.130	5.680	215	49	184	715	773	2.930	68
14.	288	123	14.400	6.480	329	42	246	823	1.350	1.890	156

VIII. Literatur.

1. Aster, R.H.: Pooling of platelets in the spleen: Role in the pathogenesis of hypersplenic thrombocytopenia.
J.Clin. Invest. 45, 645 (1966)
2. Bastide, P.,
Jaquement, L.,
Simon, E.,
Plat, P.M.,
Dastugue, G.: Influence de la conservation sur quelques enzymes plaquettaires dans l'espèce humaine.
Path. et Biol. 10, 1519 (1962)
3. Bettex-Galland, M.
and E.F. Lüscher: Extraction of an actinomyosin-like protein from human thrombocytes.
Nature (London) 184, 276 (1959)
4. Bettex-Galland, M.,
Lüscher, E.F.: Extraction d'une protéine contractile à partir des thrombocytes humains normaux.
Helv.physiol.pharmacol.Acta 17, 3 (1959)
5. Bettex-Galland, M.
and E.F. Lüscher: Studie on the metabolism of human blood platelets in relation to clot retraction.
Thrombos. Diathes. haemorrh. 4, 178 (1960)
6. Bettex-Galland, M.,
Lüscher, E.F.: Thrombosthenin: A contractile protein from thrombocytes. Its extraction from human blood platelets and some of its properties.
Biochim. biophys.Res. Commun. 49, 536 (1961)
7. Bettex-Galland, M.
et Maupin, B.: Chimie des plaquettes sanguines:
II. Équipement enzymatiques et métabolisme.
Hémostase 1, 375 (1961)
- 7a. Bleifeld, E.: Zur Pathogenese der Thrombocytopenie beim Hypersplenismus.
Dtsch. med. Wschr. 92, 2149 (1967)

8. Bock, H.E.,
Karges, O.,
Löhr, G.W. und
Waller, H.D.:
Fermenteigenschaften von roten Blutzellen bei
Lebererkrankungen.
Klin. Wschr. 36, 56 (1958)

9. Bock, H.E.,
Waller, H.D.,
Löhr, G.W. und
Karges, O.:
Besonderheiten im Fermentgehalt von
Megalocyten.
Klin. Wschr. 36, 151 (1958)

10. Born, G.V.:
Adenosintriphosphate (ATP) in blood
platelets.
Biochem.J. 62, 33 (1956)

11. Born, G.V.:
Aggregation of blood platelets by adenosine-
diphosphate and its reversal.
Nature (London) 194, 927 (1962)

12. Born, G.V.,
Cross, M.J.:
Effect of ADP on the concentration of
platelets in circulating blood.
Nature (London) 197, 974, (1963)

13. Braunsteiner, H.
Pakesch, F. und
Vetter, H.:
Isolierung und Anreicherung funktionsrichti-
ger Leukocyten und Thrombocyten mittels
Polyvinylpyrolidin.
Acta haemat. (Basel) 8, 304 (1952)

14. Breddin, K.:
Haemorrhagische Diathesen bei Leberer-
krankungen unter besonderer Berücksichtigung
der Thrombocytenfunktion.
Acta haemat. (Basel) 27, 1 (1962)

15. Broicher, H.,
H. Egli und
K. Kesslers:
Gerinnungsphysiologische Untersuchungen
und Leberfunktion.
Dtsch.med.Wschr. 85, 350 (1960)

16. Bücher, Th.,
W. Luh und
D. Pette:
Einfache und zusammengesetzte Tests mit
Pyridinucleotiden.
In: Jloppe-Seyler/Thierfelder:
Handbuch der Physiologisch und pathologisch-
chemischen Analyse. Bd. VI/A/p 292.
10. Auflage. Berlin-Göttingen-Heidelberg
Springer (1964),

17. Cohen, P.,
F.H. Gardner and
G.O. Barnett:
Reclassification of the thrombocytopenias by
the Cr^{51} labelling method for measuring
platelet life span.
New.Engl.J.Med. 264, 1294 (1961)

18. Dameshek, W.:
Hypersplenism.
Bull.N.Y.Acad.Med. 31, 113 (1955)

19. Dastugue, G.,
Bastide, B. et
Plat, M.:
L'Équipement enzymatiques des plaquettes
sanguines.
Ann.Biol.clin. 22, 227 (1964)

20. Delbrück, A.,
E. Zebe,
Th. Büchers:
Über Verteilungsmuster von Enzymen des
energieliefernden Stoffwechsels im Flug-
muskel, Sprungmuskel und Fettkörper von
Locusta migratoria und ihre cytologische
Zuordnung.
Biochem.Z. 331, 273, (1959)

21. Deutsch, E. und
I. Stockinger:
Strukturprobleme der Thrombocyten.
Wien.Z.Inn.Med. 44, 61 (1963)

22. Documenta Geigy
Wissenschaftliche Tabellen. 6. Auflage.
Basel, (1960)

23. Mc.Donald, T.P.,
T.T. Odell jr. and
D.G. Gosslee:
Platelet size in relation to platelet age.
Proc.Soc.exp.Biol.Med. 115, 684 (1964)

24. Feissly, R.,
H. Lüdin:
Action de la cocaïn sur les plaquettes
sanguines.
Helv.physiol.Arch. 7, 9 (1949)

25. Fonio, A.:
Über das funktionelle Verhalten der isolierten
Strukturelemente der Thrombocyten, des
Hyalomers und des Granulomers.
Acta haemat. (Basel) 6, 207 (1951)

26. Frank, E.: Pseudohaemophilia hepatica.
In: Schittenhelm:
Handbuch der Krankheiten des Blutes und
der blutbildenden Organe. Bd. II. p.445
Berlin, Springer (1925)
27. Gaarder, A.,
Jonsen, J.,
Laland, S.,
Hellem, M. and
Owren, P.A.: Adenosine-diphosphate in red cells as a
factor in adhesivnes of human blood platelets.
Nature (London) 192, 531 (1961)
28. Goebell, H.,
Klingenberg, M.: DPN-spezifische Isocitratdehydrogenase
der Mitochondrien.
Biochem.Z. 340, 441 (1964)
29. Goebell, H. und
B. Kadenbach: DPN- und TPN-spezifische Isocitratdehydro-
genasen als Indikatorsysteme für die oxyda-
tiven und synthetischen Stoffwechselwege.
Verh.dtsch.Ges.inn.Med. (1964) p. 665
30. Grignani, F. und
G.W. Löhr: Über die Hexokinase in menschlichen Blut-
zellen.
Klin.Wschr. 38, 796 (1960)
31. Gross, R.,
Gerok, W.,
Löhr, G.W.,
Vogell, W.,
Waller, H.D. und
Theepold, W.: Über die Natur der Thrombasthenie.
Klin.Wschr. 38, 193 (1960)
32. Gross, R.: Pathophysiologie und Klinik der Thrombocy-
ten.
Verh.dtsch.Ges. inn.Med. 66, 813 (1960)
33. Gross, R.: Biochemie normaler und pathologischer Blut-
plättchen.
Proc. 8th europ.Congr.Haem./Wien, (1961)
p. 16

34. Gross, R.: Thrombocytopathien
In: Linneweh, F.:
Erbliche Stoffwechselkrankheiten. S.488-500.
Urban & Schwarzenberg (München-Berlin)
1962
35. Harrington, W.J.,
Minnich, V.,
Hollingsworth, J.W. and
Moore, C.V.: Demonstration of thrombocytopenic factor
in blood of patients with thrombocytopenic
purpura.
J.Lab.and Clin.Med. 38, 1 (1951)
36. Harrington, W.J. Immunologic mechanism in idiopathic and
neonatal thrombocytopenic purpura.
Ann.Int.Med. 38, 433 (1953)
37. Heilmeyer, L.: Rapports physiologiques entre la rate et la
moelle osseuse.
Rev. Hémat. 9, 267 (1954)
38. Heinrich, H.G.: Die Bedeutung der Gerinnungsanalyse des
Blutes für die Diagnostik von Lebererkrankungen.
Z.inn.Med. 12, 594 (1957)
39. Holzknecht, F.: Die Normalwerte der Thrombocyten. Vergleich
einer direkten und indirekten Methode.
Wien.Z.Inn.Med. 44, 314 (1963)
40. Huber, H.,
M. Ciresa und
N. Shirakura: Über die Aktivität der Glukose-6-phosphat-
Dehydrogenase in den Erythrocyten bei
Leberzirrhose.
Wien.Z.inn.Med. 44, 26 (1963)
41. Jürgens, J.: Leberdiagnostik mit der Blutgerinnungs-
analyse.
Med.Welt (Stuttg.) 9, 857 (1958)
42. Jürgens, J.: Über Thrombocytenfunktionsstörungen bei
Leberparenchymschäden.
Proc.8th Eurp.Congr. Haem. /Wien (1961)

43. Köppel, G.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Funktionsmorphologie der Thrombocyten und zum Gerinnungsablauf im normalen menschlichen Nativblut. Z.Zellforsch. 47, 401 (1958)
44. Koppel, J.L., Olwin, J.H.: Dehydrogenase activity of human platelets. Proc.Soc.exp.Biol.Med. 86, 641 (1954)
45. Korinth, E.: Untersuchungen über die quantitativen, morphologischen und funktionellen Veränderungen der Thrombocyten bei chronischen Lebererkrankungen. Acta hepatosplen. (Stuttgart) 9, 65 (1963)
46. Lasch, H.G., Hartert, H., Schimpf, K., Sessener, H.J.: Über hepatogene Blutungen. Dtsch.Arch.Klin.Med. 203, 52 (1956)
47. Linder, A.: Statistische Methoden. 2. Auflage. Birkhauser-Verlag (Basel-Stuttgart) 1957
48. Linneweh, F., Löhr, G.W., Waller, H.D. und Gross, R.: Über die Diagnose von Glycogenosen aus der Glukose-6-phosphatase-Aktivität und dem Glykogengehalt der Thrombocyten. Enzym.biol.clin. 2, 188 (1962/63)
49. Löhr, G.W. und Waller, H.D.: Zellstoffwechsel und Zellalterung. Klin.Wschr. 37, 833 (1959)
50. Löhr, G.W., Waller, H.D. und Gross, R.: Beziehungen zwischen Plättchenstoffwechsel und Retraktion des Blutgerinnsels. Dtsch.med.Wschr. 86, 897 und 86, 941 (1961)
51. Löhr, G.W. und Waller, H.D.: Zur Biochemie der Erythrocytenalterung. Folia haemat. (Leipzig) 78, 385 (1962)

52. Lüscher, E.F.: Glukose als Cofaktor bei der Retraktion des Blutgerinnsels.
Experientia (Basel) 12, 294 (1956)
53. Lüscher, E.F.: Biochemische Eigenschaften und physiologische Bedeutung der Blutplättchen.
Schweiz.med.Wschr. 89, 1021 (1959)
- 53a. Mansour, T.E.: Studies on heart phospho-fructokinase: Purification, inhibition and activation.
Z.Biol.Chem. 238, 2285 (1963)
54. Martini, G.A.: Blutungen durch portale Hypertension.
8. Sympos.Dtsch.Ges.Blutgerinnungsf. (1964)
55. de Nicola, P.: Leber und Blutgerinnung.
Acta hepatosplen. (Stuttgart) 7, 86 (1960)
56. Pedrazzini, A. und E. Salvidio: Die Fermente der menschlichen Thrombocyten und ihre wahrscheinliche Bedeutung im Mechanismus der Blutstillung.
Schweiz.med.Wschr. 38, 1097, (1956)
57. Pedrazzini, A. und E. Salvidio: Enzymveränderungen der Blutplättchen bei den hypoprothrombinämischen Morgagni-Laenec'schen Leberzirrhosen.
Acta haemat. (Basel) 18, 42 (1957)
58. Penny, R., M.C. Rozenberg and B.G. Firkin: The splenic platelet pool.
Blood (Baltimore) 27, 1 (1966)
59. Pette, D.: Plan und Muster im zellulären Stoffwechsel.
Die Naturwissenschaften 52, 597 (1965)
60. Plat, P.M., Bastide, P. et Dastugue, G.: De quelques activités enzymatiques des plaquettes sanguines.
Nouv.Rev.Franc.Hémat. 3, 393 (1963)

61. Plat, P.M.,
Bastide, P. et
Dastugue, G.:
Des principales activités enzymatiques des
plaquettes sanguines.
Path. et Biol. 11, 352 (1963)
62. Quick, A.J.:
Thrombopathy - Thrombasthenie.
Am.J.Med.Scienc. (Philadelphia)
251, 156 (1966)
63. Racker, E.J.:
Spectrophotometric measurement of Hexokinase
and Phosphohexokinase activity.
J.biol.Chem. 167, 843 (1947)
64. Rapoport, S.,
Ames, S.B.,
Mikelsen, S. and
Goodman, S.R.:
Plasma clotting factors in chronic
hepatocellular disease.
New.Engl.J.Med. 263, 278 (1960)
65. Rapoport, S.:
Reifung und Alterungsvorgänge in
Erythrocyten.
Folia haemat (Leipzig) 78, 364 (1962)
66. Sauer, A.J. and
van Loghem, J.J.:
Study on occurrence of platelet antibodies.
Vox Sanguinis 4, 120 (1954)
- 66a. Schettini, F.,
Berni-Canani, M.,
Rea, F. et
Di Francesco, L.:
Studio delle attività fruttosio-1-fosfato
aldolasi nelle piastrine di bambini
normali.
Boll. Soc. ital. sper. 57, 1016 (1961)
67. Schreiber, H.W.:
Blutungen durch portale Hypertension.
8. Sympos.Dtsch.Ges. Blutgerinnungf. (1964)
68. Schultz, H. und
E. Hiepler:
Über die Lokalisierung von gerinnungsphysio-
logischen Aktivitäten in submikroskopischen
Strukturen der Thrombocyten.
Klin.Wschr. 37, 273 (1959)
69. Spaet, T.H. and
Zucker, M.B.:
Mechanism of platelet plug formation and
role of adenosine-disphosphate.
Amer.J.Physiol. 206, 1267 (1964)

70. Vandenbroucke, J. and Verstraete, M.: Thrombocytopenia due to platelet agglutinins in newborn. *Lancet* 1, 593 (1955)
71. Vogell, W., F.R. Bishai, Th. Bücher, M. Klingenberg, D. Pette, E. Zebe: Über strukturelle und enzymatische Muster in Muskeln von *Locusta migratoria*. *Biochem. Z.* 332, 81 (1959)
72. Waller, H.D., G.W. Löhr, F. Grignani, R. Gross: Über den Energiestoffwechsel normaler menschlicher Thrombocyten. *Thrombos.Diathes.haemorrh.* 3, 520 (1959)
73. Waller, H.D. und Gross, R.: Genetische Enzymdefekte als Ursache von Thrombopathien. *Verh. dtsch.Ges. inn. Med.* 70, 476 (1964)
74. White, J.G. and W. Krivit: Fine structural localisation of adenosine-triphosphatase in human platelets and other blood cells. *Blood (Baltimore)* 26, 554 (1965)
75. Witt, I., H. Müller und W. Künzer: Vergleichende biochemische Untersuchungen an Erythrocyten aus Neugeborenen- und Erwachsenenblut. *Klin.Wschr.* 45, 262 (1967)
76. Witte, S. und Dirmberger, P.: Klinische Untersuchungen über die Gerinnungsfaktoren Prothrombin, Faktor V und Faktor VII bei Lebererkrankungen und ihre Beeinflussung durch Vitamin K₁ und Synkavit. *Klin.Wschr.* 31, 781 (1953)
77. Witte, S.: Vergleichende Untersuchungen über den diagnostischen Wert der Gerinnungsfaktoren Prothrombin und Faktor VII sowie der Eiweißlabilitätsreaktionen bei Leberparenchymkrankheiten. *Med.Welt.* (1955) S. 1072

78. Wright, C.S. Doan, C.A., Bouroncle, B. and Zollinger, R.M.: Direct splenic arterial and venous blood studies in hypersplenic syndromes before and after epinephrine. Blood (Baltimore) 6, 195 (1951)
79. Zucker, M.B. and J. Borelli: A survey of some platelet enzymes and functions: The platelet as the source of normal serum acid glycerophosphatase. Ann. New York Acad. Sci. (New-York) 75, 203 (1958/59)
80. Zucker, M.B. and Borelli, J.: Platelet clumping produced by connective tissue suspensions and by collagen. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 109, 779 (1962)

Mein aufrichtiger Dank gilt dem Direktor der Medizinischen Klinik Marburg, Herrn Professor Dr. med. G.A. Martini, der mir ein Arbeiten unter günstigen Voraussetzungen und in anregender Umgebung ermöglichte. - Weiterhin danke ich besonders Herrn Dr. med. H. Goebell, der mich selbstlos unterstützte und mir stets mit Rat und Tat zur Seite stand.

Lebenslauf

Am 2. Mai 1938 wurde ich als Sohn des Lehrers Friedrich Bickel und seiner Ehefrau Elfriede, geb. Sander in Laubach, Kreis Gießen, geboren.

Im Herbst 1945 trat ich in die Volksschule in Freienseen, Kreis Gießen ein, besuchte danach das Real-Gymnasium Theo-Koch-Schule in Grünberg, Kreis Gießen und legte dort am 9. März 1960 die Reifeprüfung ab.

Das Medizinstudium begann ich am 2. Mai 1960 an der Universität Frankfurt/Main. Nach bestandenen Physikum und Zusatzreifeprüfung in Latein folgte ein Semester an der Universität Innsbruck. Ab Mai 1964 studierte ich an der Philipps-Universität Marburg und bestand am 10. Dezember 1966 das Medizinische Staatsexamen.

Als Medizinalassistent arbeitete ich von Januar bis Mai 1967 zunächst für fünf Monate an der Dermatologischen Universitätsklinik Marburg, anschließend einen Monat bei einem praktischen Arzt und zwei Monate am Sanatorium Sonnenblick Marburg. Seit September 1967 bin ich an der Universitätsfrauenklinik tätig.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten in Frankfurt: Artelt, Czerny, Dänzer, Frick, Gerhardt, Giersberg, Greven, Halbsguth, Heinz, Kleinschmitt, Kummer, Müser, Ortmann, Ried, Roka, Royen, Seubert, Schmitt-Neuroth, Schröder, Starck, Wezler, Wieland, Zahn. In Innsbruck: Gabl, Ganner, Gögl, Günther, Galhuber, Huber, Konrad, Lang, Rössler, Scharfetter, Schinzel, Steiner, Tapfer. In Marburg: Beckmann, Behrend, Berendes, Bommer, Braun-Falco, Buchholz, Dölle, Exner, Gedigk, Hamm, Hartmann, Heuser, Hildebrandt, Jakob, Knauf, Lang, Linneweh, Lübbers, Mann, Martini, Marx, du Mesnil de Rochemont, Neubauer, Petzold, Poetschke, Rodeck, Rohen, Sauer, Schiff, Schleyer, Schmid, Schmidt, Schürmann, Schwaiger, Siegert, Siess, Straub, Strohmeyer, Würterle.

Marburg, den 15. Dez. 1967

